

Capítulo **4**

Análises químicas de fertilizantes orgânicos (urbanos)

Mônica Ferreira de Abreu
Cassio Hamilton Abreu Junior
Fábio Cesar da Silva
Gláucia Cecília Gabrielli dos Santos
João Carlos de Andrade
Taciana Figueiredo Gomes
Aline Renée Coscione
Cristiano Alberto de Andrade



1. Introdução

O controle da qualidade de fertilizantes orgânicos de origem urbana utilizados na agricultura é hoje uma medida de suma importância para a classe produtora rural, em decorrência da necessidade de planejamento de fertilização de menor custo e do conhecimento dos fertilizantes orgânicos que podem ser usados na agricultura como insumo. As vantagens podem ser mensuradas pelo baixo custo operacional, pelo uso do produto na fertilização do solo e pela subsequente redução de resíduos sólidos urbanos destinados aos aterros sanitário e industrial. Porém, sua utilização depende do atendimento de padrões mínimos de qualidade fertilizante e segurança alimentar, para evitar, assim, a contaminação do solo, da água e dos produtos plantados. Surge, portanto, uma exigência cada vez maior para que os laboratórios sejam equipados de maneira adequada para atender às reais necessidades de nossa época.

2. Amostragem e preparo da amostra

2.1 Amostragem em pilhas/leiras para a análise (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1987)

Determinações preliminares em amostras sólidas

Para avaliar o tamanho das partículas, a amostra deve passar em peneira de malha de 9,5 mm. Nessa condição, ela está pronta para a etapa de extração. Caso contrário, a amostra deve ser triturada até que atenda ao requisito acima.

Se a amostra for utilizada para extração de voláteis, resfriar o resíduo a 4 °C, antes de triturar, e evitar o manuseio da amostra por tempo prolongado para minimizar a perda de voláteis.

Definição de pontos de amostragem

Retirar a amostra de pelo menos três pontos (topo, meio e base), a partir do topo, igualmente afastados entre si. O amostrador deve penetrar obliquamente no monte ou pilha.

Escolha do amostrador

O amostrador é constituído basicamente de um tubo de metal ou plástico, cortado longitudinalmente até aproximadamente 10 cm de uma

das pontas, formando assim um grande chanfro. As bordas e a ponta chanfrada devem ser afiadas para permitir que o amostrador corte o material a ser coletado. A ponta não chanfrada serve como manopla. Esse amostrador é usado para amostrar resíduos em montes ou pilhas com diâmetros superiores a 1 m, podendo ser usado também para coletar resíduos em grandes receptáculos ou silos onde outros amostradores não são adequados. O amostrador de montes ou pilhas não obtém amostras representativas quando o diâmetro das partículas é superior a 1,6 cm.

Procedimentos de amostragem na leira

- Introduzir o amostrador do material a ser amostrado em um ângulo entre 0 e 45° com a horizontal.
- Girar o amostrador 2 ou 3 vezes para cortar a amostra.
- Retirar vagarosamente o amostrador do material, assegurando-se de que sua abertura está voltada para cima.
- Transferir a amostra para um frasco de amostragem com auxílio de uma espátula ou escova.
- Repetir a amostragem em diferentes pontos, duas ou mais vezes, e combinar as amostras.
- Tampar o frasco, colocar a etiqueta e o selo e preencher a ficha de coleta.
- Limpar o amostrador ou embalá-lo em saco plástico para posterior limpeza e preparo.
- Enviar a amostra para laboratório.

2.2 Preparação da amostra para a análise

a) Redução da quantidade da amostra

Por quarteação manual

Colocar a amostra sobre um papel limpo e homogeneizar com espátula, formando um monte de base circular. Com o auxílio de uma régua, dividir (em cruz) o monte em 4 partes iguais e tomar 2 partes opostas. Repetir a operação até obter mais ou menos 125 g da amostra.

Por quarteador tipo “Jones” (8 vãos de 15 mm de largura)

Homogeneizar a amostra ainda na embalagem de coleta. Transferi-la para o recipiente do quarteador, sem encher até a borda (se o volume

for excessivo, proceder à redução manual antes de levar para o quarteador). Proceder ao quartejamento. Desprezar o material coletado em um dos recipientes do quarteador e repetir o processo até que a quantidade da amostra esteja próxima de 125 g.

b) Preparo da amostra

Moer toda a amostra e passar em peneira de 0,84 mm quando se tratar de fertilizantes simples ou mistura úmida. No caso de fertilizantes com tendência a segregar (mistura de grânulos, mistura granulada), moer e passar em peneira de 0,42 mm. Homogeneizar esmeradamente com espátula e transferir para frasco com tampa, devidamente numerado.

3. Métodos de análise

A descrição dos métodos a seguir, enriquecida pelas metodologias em uso pela Agência Norte-americana de Proteção Ambiental (EPA), baseou-se nas seguintes referências: Brasil (1988), Kiehl (1985) e Andrade e Abreu (2006).

Todos os reagentes citados devem ser de grau analítico e a água, deionizada.

3.1 Determinação de pH

A determinação da reação, ou pH, em amostras agronômicas – como solos, resíduos e fertilizantes – é importante, pois essa propriedade é um indicador de suas condições químicas. A acidez (ou alcalinidade) interfere na forma como os vários elementos químicos essenciais ao desenvolvimento vegetal estão disponíveis, favorecendo ou não sua liberação para uso pelas plantas. No solo, funciona como indicador da acidez, representado pela atividade do íon H^+ que corresponde ao hidrogênio dissociado existente em solução, em equilíbrio com a acidez da fase sólida. Sua determinação é feita com eletrodos mergulhados em suspensão da amostra em água ou em cloreto de cálcio e medida com potenciômetro, devidamente calibrado, usando eletrodo de vidro combinado.

Faz-se a determinação do pH da amostra, preferencialmente com material recém-coletado e com sua umidade natural. O pH pode ser determinado em água ou em solução de cloreto de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, devendo o resultado analítico indicar o que se utilizou: água ou cloreto

de cálcio. O método oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, porém, recomenda a utilização da solução de cloreto de cálcio.

3.1.1 Em água

Reagentes e soluções

- Soluções tampão para calibração (pH 4,00 e pH 7,00).
- Água deionizada.

Procedimento

- Pesar 10 g (± 1 mg) da amostra in natura, em frasco de plástico com tampa. Adicionar 50 mL de água deionizada.
- Colocar o frasco de plástico tampado em um agitador com movimento circular horizontal a 220 rpm, por 5 minutos. Após agitação da mistura, deixar em repouso por 15 minutos.
- Em seguida, fazer as medidas do pH.

3.1.2 Em CaCl_2

Empregando a solução de cloreto de cálcio em lugar da água, os resultados serão sempre um pouco diferentes. O pH em água determina apenas a concentração do hidrogênio na solução, não indicando a concentração dos hidrogênios retidos na superfície dos colóides. Empregando a solução de cloreto de cálcio, os hidrogênios trocáveis existentes na superfície dos colóides serão desalojados pelo cálcio e passarão para a solução. Por essa razão, espera-se que essa determinação apresente valores sempre um pouco abaixo dos encontrados com água.

Reagentes e soluções

- Soluções tampão para calibração (pH 4,00 e pH 7,00).
- Solução de cloreto de cálcio $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ – Dissolver 1,47 g (± 1 mg) de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em água destilada. Diluir a 1 L de solução.

Nota: o pH dessa solução deve estar entre 5,00 e 5,50. Se não estiver, deve ser ajustado com soluções diluídas de HCl ou Ca(OH)_2 . Como o cloreto de cálcio absorve umidade, é necessário padronizar essa solução.

Padronização da solução de CaCl_2 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ – Transferir 25 mL da solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de cloreto de cálcio para frasco erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de água deionizada, adicionar 2 mL de NaOH a 20 %, 3 mL de KCN a 10 %, 5 gotas de trietanolamina, 5 gotas de uma solução em álcool metílico de calcon a 0,1 % como indicador, titular rapidamente com a solução de EDTA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até viragem da coloração vermelha para a azul-pura.

Procedimento

- Pesar 10 g da amostra in natura e transferir para frasco de plástico com tampa com capacidade de 100 mL.
- Adicionar 50 mL da solução de cloreto de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.
- Agitar a mistura em agitador de movimento circular horizontal a 220 rpm, por 10 minutos. Após a agitação, deixar em repouso por 30 minutos.
- Em seguida, sem agitar, fazer as medidas do pH da suspensão, expressando o resultado com a indicação "pH em solução $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ de CaCl_2 ".

3.1.3 Método EPA

Esse procedimento pode ser utilizado indistintamente para análise de resíduos orgânicos, inorgânicos e solos. O método foi descrito de acordo com o procedimento da EPA 9045 C (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1993).

Reagentes e soluções

- Soluções tampão para calibração (pH 4,00 e pH 7,00).
- Água deionizada

Procedimento

- Pesar uma massa de 20 g ($\pm 1 \text{ mg}$) de resíduo ou de solo in natura em frasco de plástico com tampa. Adicionar 20 mL de água deionizada (quando o resíduo apresentar-se higroscópico, adicionar 40 mL de água deionizada).

- Colocar o frasco de plástico tampado e agitar a mistura em agitador de movimento circular horizontal a 220 rpm, por 5 minutos. Após agitação, deixar em repouso por 15 minutos (amostras de resíduo – condição 1) ou 60 minutos (amostras de solo – condição 2).
- Em seguida, sem agitar, fazer as medidas do pH da suspensão.

3.2 Determinação da condutividade elétrica

Os sais solúveis ocorrem em quantidades variáveis no solo. Em condições de clima árido e semi-árido, por exemplo, quando a disponibilidade de água no solo é menor que a evaporação, pode haver acúmulo de sais no solo.

Excesso de sais prejudica a germinação, o desenvolvimento e a produtividade das plantas, pois exige da planta um gasto maior de energia para absorção de água do solo, o que prejudica seus processos metabólicos.

A avaliação da potencialidade de um fertilizante de salinizar o solo (efeito salino) é muito importante em regiões de baixa pluviosidade.

A medida da condutividade elétrica (CE) apresenta uma estimativa da quantidade total de sais presentes no extrato (fertilizante-água ou resíduo-água), levando em consideração que a resistência para a passagem de corrente elétrica diminui com o aumento da concentração de sais (RAIJ et al., 2001).

O método de preparo do extrato, ou seja, a proporção água:amostra depende do propósito da determinação e da precisão necessária.

3.2.1 Em extrato 1:10 (m/v)

Esse procedimento pode ser utilizado indistintamente para análise de resíduos orgânicos, inorgânicos e solos. O método foi descrito de acordo com o proposto por Camargo et al. (1986).

Reagentes e soluções

- Água deionizada.

Procedimento

- Pesar uma massa de 5 g (± 1 mg) de resíduo ou de solo in natura em frasco de plástico com tampa. Adicionar 50 mL de água deionizada.

- Colocar o frasco de plástico tampado e agitar a amostra em agitador de movimento circular horizontal a 220 rpm, por 30 segundos. Após agitação, deixar em repouso por 30 minutos. Repetir esse procedimento por 5 vezes.
- Em seguida, sem agitar, fazer as medidas da CE.

3.2.2 Em extrato 1:5 (m/v)

Esse procedimento pode ser utilizado indistintamente para análise de resíduos orgânicos, inorgânicos e solos. O método foi descrito de acordo com o proposto por Rajj et al. (2001).

Reagentes e soluções

- Água deionizada

Procedimento

- Transferir, com cachimbo, 10 cm³ de resíduo ou de solo secado ao ar para frasco de plástico com tampa. Adicionar 50 mL de água deionizada. Deixar em repouso por 30 minutos.
- Colocar o frasco de plástico tampado e agitar a amostra em agitador de movimento circular horizontal a 220 rpm, por 15 minutos. Centrifugar o extrato por 10 minutos a 6.000 rpm.
- Em seguida, sem agitar, fazer as medidas da CE no sobrenadante.

3.2.3 Em extrato 1:2 (v/v)

Esse procedimento pode ser utilizado indistintamente para análise de resíduos orgânicos, inorgânicos e solos. O método foi descrito de acordo com o proposto por Rajj et al. (2001).

Reagentes e soluções

- Água deionizada.

Procedimento

- Transferir 100 mL de água deionizada para um frasco de vidro de 150 mL com tampa e volume aferido. Adicionar o resíduo ou o solo in natura aos poucos, até atingir a marca de 150 mL.

- Colocar o frasco de vidro tampado e agitar a amostra em agitador de movimento circular horizontal a 220 rpm, por 20 minutos. Centrifugar o extrato por 10 minutos a 6.000 rpm.
- Em seguida, sem agitar, fazer as medidas da CE no sobrenadante.

Observações

- Ligar o aparelho com uma hora de antecedência.
- Antes de fazer as medidas, lavar a célula de condutividade três vezes com água deionizada e então enchê-la com o extrato.

3.3 Determinação da umidade a 60 °C–65 °C e dos sólidos voláteis

A temperatura na qual a amostra é secada tem importância fundamental para os resultados, porque há perdas por causa da volatilização da matéria orgânica, da água ocluída mecanicamente, da água de cristalização e dos gases provenientes da decomposição química. As amostras devem ser secadas à temperatura de 60 °C–65 °C para cessar os processos fermentativos que podem alterar sua composição. Esse é o método oficial para fertilizantes orgânicos descrito por Kiehl (1985).

Com base nas diferentes temperaturas de secagem, podem ser determinadas as seguintes características: sólidos totais secos e sólidos totais suspensos a 103 °C–105 °C, sólidos totais dissolvidos a 180 °C e sólidos voláteis e fixados destruídos a 500 °C (APHA, 1998). O presente texto descreve apenas o método dos sólidos voláteis exigido pela Norma 4230 da Cetesb (1999) e do Conama (2006).

3.3.1 Umidade a 60 °C–65 °C

Procedimento

- Pesar 10 (\pm 1 mg) da amostra in natura, transferir para cápsula de porcelana, tarada, e levar à estufa com ventilação forçada a 60 °C–65 °C, até peso constante (cerca de 24 horas).
- Retirar da estufa, esfriar em dessecador e pesar (massa 60 °C–65 °C).

- Calcular a umidade na amostra pela expressão

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{100(\text{massa úmida} - \text{massa seca})}{\text{massa úmida}}$$

3.3.2 Sólidos voláteis

Procedimento

- Pesar 5 g (± 1 mg) de resíduo seco a 60 °C–65 °C ou da amostra in natura em cápsula de porcelana, tarada, e elevar a temperatura a 103 °C–105 °C até peso constante (massa 103 °C).
- Colocar o resíduo seco mencionado acima em uma mufla e elevar a temperatura a 550 °C, por uma hora.
- Retirar da mufla, esperar o calor se dissipar, esfriar em dessecador e pesar (massa 500 °C). Repetir o processo de combustão por mais 30 minutos até peso constante. Normalmente são necessários 20 minutos de combustão para cada 200 mg de amostra, embora alguns materiais exijam um tempo maior para a combustão da matéria orgânica.

Calcular o teor de sólidos voláteis na amostra pela expressão

$$\text{Sólidos voláteis (\%)} = \frac{100(\text{massa } 103 \text{ °C} - \text{massa } 500 \text{ °C})}{\text{massa } 103 \text{ °C}}$$

3.4 Determinação do nitrogênio total e do nitrogênio inorgânico

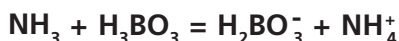
3.4.1 Nitrogênio total

O nitrogênio pode ser encontrado na matéria orgânica e nos fertilizantes orgânicos nas formas orgânica, amoniacal e nítrica. Nas formas orgânica e amoniacal, ele ocorre nas amidas, cianamidas e compostos nitrogenados complexos (proteínas, aminoácidos, etc.). A forma nítrica ocorre nos fertilizantes orgânicos humificados, em fase de mineralização, razão pela qual geralmente não é determinada. Quando se faz referência à análise de nitrogênio total, consideram-se os teores das três formas de nitrogênio: orgânico, amoniacal e nítrico (KIEHL, 1985).

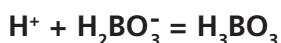
O nitrogênio total encontra-se principalmente na forma orgânica, envolvendo espécies químicas heterogêneas, que abrangem desde compostos de baixa massa molar até compostos de fórmulas complexas e resistentes à decomposição (RAIJ et al., 2001).

Os métodos de Kjeldahl são empregados há muitas décadas na determinação de nitrogênio total em diferentes amostras. Inicialmente, faz-se a digestão com ácido sulfúrico para que os nitrogênios orgânico e amoniacal passem à forma de sulfato de amônio. Para essa conversão, é necessário o emprego de catalisadores como sulfato de cobre, selênio, mercúrio e também de sulfato de potássio para elevar a temperatura do ácido sulfúrico e acelerar o processo de digestão (KIEHL, 1985; RAIJ et al., 2001).

Para a determinação do amônio, o extrato da digestão (extrato sulfúrico) é alcalinizado com hidróxido de sódio, produzindo amônia, que é arrastada por vapor de água e recolhida em solução de ácido bórico e indicadores, de acordo com a seguinte reação:



O borato de amônio é retrotitulado com solução padronizada de ácido sulfúrico. A quantidade de ácido sulfúrico utilizado é proporcional ao nitrogênio, na forma amônio, presente na amostra. A titulação ocorre de acordo com a seguinte reação:



a) Método do ácido salicílico

Reagentes e soluções

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 - 18,0 mol L^{-1}).
- Óxido de mercúrio ou mercúrio metálico, p.a.
- Sulfato de potássio ou sulfato de sódio anidro, p.a.
- Ácido salicílico, p.a.
- Solução de sulfeto de potássio ou tiosulfato de sódio – Dissolver 40 g de K_2S em 500 mL de água destilada, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume (soluções de 40 g de Na_2S ou 80 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ por litro podem ser usadas).

- Solução de hidróxido de sódio a 450 g L^{-1} – Dissolver aproximadamente 450 g de NaOH sólido em 600 mL de água destilada, esfriar e transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume. Acondicionar em recipiente de plástico, com tampa.
- Zinco em pó.
- Zinco granulado.
- Indicador vermelho de metila – Dissolver 1 g de vermelho de metila em 200 mL de etanol. Acondicionar em frasco de vidro.
- Soluções padronizadas de ácido clorídrico ou sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ou $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ quando a quantidade de nitrogênio for pequena.
- Solução padronizada de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Procedimento

- Transferir uma quantidade da amostra (de 0,7 g a 2,2 g) para um balão de Kjeldahl de 800 ml, juntar 40 mL de ácido sulfúrico nos quais foram dissolvidos 2 g de ácido salicílico, agitar para misturar perfeitamente e deixar em repouso, por 30 minutos pelo menos, agitando de vez em quando.
- Acrescentar 5 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ou 2 g de zinco em pó fino, agitar, esperar 5 minutos e aquecer em fogo brando até cessar a espuma.
- Interromper o aquecimento, juntar 0,7 g de HgO (ou 0,65 g de Hg metálico) e 15 g de K_2SO_4 ou 15 g de Na_2SO_4 anidro, em pó, e levar à ebulição até a solução tornar-se clara, continuando por mais 30 minutos, no mínimo (2 h para amostras contendo material orgânico).
- Esfriar, juntar 200 mL de água, adicionar 25 mL de solução de tiosulfato ou sulfeto e misturar.
- Juntar 3 ou 4 grânulos de zinco, inclinar o frasco de Kjeldahl e adicionar 3,5 mL de solução de NaOH a 45 % para cada mL de solução de H_2SO_4 usada, sem agitar o frasco.
- Ligar imediatamente o frasco Kjeldahl ao conjunto de destilação com a ponta do condensador já mergulhada em um erlenmeyer de 500 mL que contenha uma quantidade conhecida de ácido padronizado, de acordo com a quantidade provável de nitrogênio, e de 5 a 7 gotas de vermelho de metila.

- Misturar o conteúdo, imprimindo rotações ao frasco Kjeldahl, e aquecer para destilar. Durante a destilação, o frasco Kjeldahl deve receber, no mínimo, 150 ml de destilado da solução de ácido padronizado.
- Retirar o frasco de erlenmeyer, lavar a ponta do condensador e titular o excesso de ácido com solução de NaOH padronizada.
- Fazer uma prova em branco em idênticas condições, usando 5 mL ou 25 mL da solução padronizada de H_2SO_4 0,5 ou 0,1 mol L^{-1} , respectivamente.
- Calcular a porcentagem de nitrogênio pela expressão

$$\%N = \frac{[(V_1 \times N_1 - V_2 \times N_2) - (V_3 \times N_1 - V_4 \times N_2)]}{m} \times 1,4007$$

em que:

V_1 = volume de ácido (mL) colocado para receber o NH_3 (amostra).

N_1 = normalidade do ácido.

V_2 = volume de NaOH (mL) gasto na titulação (amostra).

N_2 = normalidade de NaOH.

V_3 = volume do ácido (mL) colocado para receber o NH_3 (prova em branco).

V_4 = volume de NH_4 (mL) gasto na titulação (prova em branco).

m = massa da amostra (g).

Observações

- A absorção de amônia pode ser feita em 50 mL de ácido bórico a 4 %, caso em que a titulação será executada com solução padronizada de ácido 0,1 mol L^{-1} . A quantidade de N destilado não deve ultrapassar 65 mg.
- Em amostras com nitrogênio amídico (uréia) como única forma de nitrogênio orgânico, pode-se substituir 0,7 g de HgO por 1 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e dispensar o prolongamento da digestão além dos 30 min.

b) Método da liga de Raney

Reagentes e soluções

- Pó catalítico de Raney (50 % de Ni e 50 % de Al). Cuidado! O pó catalítico de Raney reage vagarosamente com água ou

umidade do ar, formando alumina. Evitar contato prolongado com ar e umidade durante a estocagem ou uso.

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 - 18,0 mol L⁻¹), p.a.
- Óxido de mercúrio (HgO), p.a.
- Sulfato de potássio (K_2SO_4), p.a.
- Solução de ácido sulfúrico–sulfato de potássio – Acrescentar, vagarosamente e com cuidado, 200 mL de H_2SO_4 a 625 mL de água destilada e misturar. Sem esfriar, juntar 106,7 g de K_2SO_4 e continuar a agitação até dissolver todo o sal. Diluir a quase 1 L e agitar. Esfriar, diluir para 1 L com água destilada e agitar. Evitar a absorção de NH_3 do ar durante a preparação, principalmente se ar comprimido for usado para misturar.
- Solução de sulfeto de potássio ou tiosulfato de sódio – Dissolver os 40 g de K_2S e completar a 1 L (soluções de 40 g de Na_2S ou 80 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ por litro podem ser usadas).
- Solução de hidróxido de sódio a 45 % – Dissolver aproximadamente 450 g de NaOH sólido em água, esfriar e diluir a 1 L. Conservar em recipiente plástico.
- Zinco granulado.
- Indicador vermelho de metila – Dissolver 1 g de vermelho de metila em 200 mL de álcool etílico neutro.
- Soluções padronizadas de ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹ ou 0,1 mol L⁻¹ ou ácido sulfúrico 0,25 mol L⁻¹ (0,05 mol L⁻¹ quando a quantidade de nitrogênio for pequena).
- Solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹.

Procedimento

- Transferir uma quantidade da amostra (de 0,2 g a 2,0 g) que contenha no máximo 42 mg de N nítrico para um balão de Kjeldahl de 800 ml.
- Juntar 1,7 g de pó de Raney e 150 mL de solução de H_2SO_4 - K_2SO_4 . Se houver mais de 0,6 g de matéria orgânica, juntar 2,5 mL de solução ácida para cada 0,1 g de matéria orgânica que exceder 0,6 g.
- Misturar o conteúdo, imprimindo rotações ao balão de Kjeldahl, e colocá-lo sobre o aquecedor frio e que esteja desligado há

10 minutos, no mínimo. Ligar o aquecedor previamente regulado para o teste de 5 minutos. Quando iniciar a fervura, reduzir o aquecimento, regulando o digestor para teste de digestão de 10 minutos.

- Depois de 10 minutos, suspender o balão na posição vertical e juntar 0,7 g de HgO e 15 g de K_2SO_4 .
- Recolocar o balão de Kjeldahl na posição inclinada e aumentar o aquecimento regulado para teste de digestão de 5 minutos (caso haja formação de espuma, suspender o Kjeldahl ou diminuir a intensidade de aquecimento). Aquecer, com aquecedor regulado para teste de digestão de 5 minutos, até os densos fumos brancos de H_2SO_4 tornarem o bulbo do balão límpido. A digestão está agora completa para amostras contendo somente N amoniacal, nítrico e amídico. Para outras formas de nitrogênio, agitar, por rotação, o balão e continuar a digestão por 2 horas.
- Esfriar, juntar 200 mL de água, adicionar 25 mL de solução de tiosulfato ou sulfeto e misturar.
- Juntar 3 ou 4 grânulos de zinco, inclinar o frasco de Kjeldahl, adicionar 3,5 mL de solução de NaOH a 45 % para cada mL de solução de H_2SO_4 usada, sem agitar o frasco.
- Ligar imediatamente o balão Kjeldahl ao conjunto de destilação com a ponta do condensador já mergulhada em um erlenmeyer de 500 mL que contém uma quantidade conhecida de ácido padronizado, de acordo com a quantidade provável de nitrogênio, e de 5 a 7 gotas de vermelho de metila.
- Agitar o conteúdo, imprimindo rotações ao balão, e aquecer para destilar. Durante a destilação, o balão Kjeldahl deve receber, no mínimo, 150 mL da solução de ácido padronizado.
- Retirar o frasco de erlenmeyer e lavar a ponta do condensador.
- Titular o excesso de ácido com solução de NaOH padronizada.
- Fazer uma prova em branco em idênticas condições, usando 5 mL ou 25 mL da solução padronizada de H_2SO_4 0,25 mol L^{-1} ou 0,05 mol L^{-1} , respectivamente, ou solução padronizada de HCl 0,5 mol L^{-1} ou 0,1 mol L^{-1} , respectivamente.
- Calcular a porcentagem de nitrogênio, pela expressão

$$\%N = \frac{[(V_1 \times C_1 - V_2 \times C_2) - (V_3 \times C_1 - V_4 \times C_2)]}{m} \times 1,4007$$

em que:

V_1 = volume de ácido (mL) colocado para receber o NH_3 (amostra).

C_1 = concentração de H^+ no ácido padronizado em $mol\ L^{-1}$.

Atenção para o H_2SO_4 : este parâmetro precisa ser multiplicado por 2.

V_2 = volume de NaOH (mL) gasto na titulação (amostra).

C_2 = concentração de NaOH em $mol\ L^{-1}$.

V_3 = volume do ácido (mL) colocado para receber o NH_3 (prova em branco).

V_4 = volume de NaOH (mL) gasto na titulação (prova em branco).

m = massa da amostra (g).

Observações

- Testes de 5 e de 10 minutos equivalem a intensidades de aquecimento necessárias para levar à ebulição 250 mL de água em balão de Kjeldahl de 800 mL em 5 e 10 minutos, respectivamente.
- A quantidade de ácido padronizado deve conter um número de equivalentes miligramas de ácido tal que exceda em 1 unidade o número de equivalentes de N provável na amostra.
- A absorção de amônia pode ser feita em 50 mL de ácido bórico a 4 %, caso em que a titulação será executada com solução padronizada de ácido 0,1 $mol\ L^{-1}$. A quantidade de N destilado não deve ultrapassar 65 mg.
- Em amostras contendo nitrogênio amídico (uréia) como única forma de nitrogênio orgânico, pode-se substituir 0,7 g de HgO por 1 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e dispensar o prolongamento da digestão além dos 30 minutos.

c) Método do microdestilador

Reagentes e soluções

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 – 18 $mol\ L^{-1}$).
- Mistura digestora – Misturar 1.000 g (± 1 mg) de sulfato de potássio (K_2SO_4) p.a., 100 g (± 1 mg) de sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) p.a. e

10 g (\pm 1 mg) de selênio p.a. Todos os reagentes devem ser previamente moídos (peneira com malha de 0,500 mm – Mesh 35 – ASTM) e estar secos. Estocar a mistura em recipiente fechado. Identificar e datar. Cuidados: usar máscara e luvas de segurança para não inalar o selênio e evitar seu contato com a pele.

- Solução de hidróxido de sódio 10 mol L⁻¹ – Dissolver cuidadosamente 400 g (\pm 1 mg) de NaOH em 600 mL de água destilada, esfriar. Transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume. Acondicionar em recipiente de plástico, com tampa. Identificar e datar.
- Mistura indicadora de vermelho de metila e verde de bromocresol – Dissolver 0,30 g (\pm 1 mg) de verde de bromocresol e 0,165 g (\pm 1 mg) de vermelho de metila em 500 mL de etanol. Acondicionar em frasco de vidro, identificar e datar.
- Solução de ácido bórico 20 mol L⁻¹ e indicador – Dissolver 80 g (\pm 1 mg) de ácido bórico em cerca de 2 L de água destilada aquecida a 60 °C–700 °C. Esfriar, adicionar 80 mL da mistura indicadora e acrescentar água destilada até completar o volume a 4 L. Acrescentar gota a gota uma solução de NaOH 0,025 mol L⁻¹ até que o ácido bórico indicador adquira coloração púrpura avermelhada (\pm pH 5,0). Acondicionar em frasco de vidro, identificar e datar.
- Solução de ácido sulfúrico 0,036 mol L⁻¹ – Dissolver 8 mL de ácido sulfúrico concentrado em 4 L de água deionizada. Agitar. Padronizar a solução com THAM (tris-hidroximetil amino metano, massa molar = 121,14 g mol⁻¹) usando vermelho de metila como indicador (dissolver 0,20 g (\pm 1 mg) de vermelho de metila em 60 mL de etanol e diluir com água a 100 mL). Para a padronização da solução de ácido sulfúrico 0,036 mol L⁻¹, pesar em balança analítica, em béquer de 50 mL, cerca de 0,130 g (\pm 1 mg) de THAM. Adicionar cerca de 10 mL de água deionizada para dissolver o reagente, 5 gotas do indicador vermelho de metila e proceder à titulação com a solução de H₂SO₄, sob agitação com agitador magnético, até o ponto de viragem amarelo para laranja. Repetir três vezes a titulação, pois o ponto de viragem é de difícil visualização. Corrigir a massa de THAM titulada levando em consideração a pureza do reagente. A padronização da solução de H₂SO₄ é dada por

$$C_{\text{H}_2\text{SO}_4} \text{ (mol L}^{-1}\text{)} = \frac{m_{\text{THAM}} \times 0,5}{V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times 0,12114}$$

em que:

m_{THAM} = massa de THAM (g) utilizada na padronização do ácido sulfúrico.

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ = volume do ácido sulfúrico (mL) gasto na titulação.

0,5 = fator para a reação do ácido sulfúrico com o THAM (0,5 mmol de H_2SO_4 por mmol de THAM).

0,12114 = massa molar do THAM (g mmol^{-1}).

A concentração da solução de H_2SO_4 é expressa (fator do ácido sulfúrico) em miligramas de N por mililitro do ácido gasto na titulação multiplicando a concentração (mmol mL^{-1}) do ácido por 28,02 (mg N mmol^{-1} de H_2SO_4). Identificar e datar o frasco.

Procedimento para digestão

- Amostra – Pesar uma massa de 0,10 g (± 1 mg) de amostra do resíduo secado a 60 °C e moído (peneira 0,500 mm – Mesh 35 - ASTM) em um pedaço pequeno de papel lenço, pois, como a amostra em pó é muito leve, isso evita a perda de amostra na parede do tubo digestor. Transferir para um tubo de digestão (tipo Folin-Wu). Adicionar ao tubo de digestão 1 g (± 1 mg) da mistura digestora, com uma medida (tipo colher).

d) O processamento da amostra

Condição 1 – Adicionar 3 mL de ácido sulfúrico concentrado ao tubo de digestão. Colocar os tubos de digestão em um bloco digestor e cobri-los com um pequeno funil de vidro (diâmetro de 25 mm). Aquecer cuidadosamente até a temperatura atingir cerca de 360 °C e deixar sob aquecimento por 3 horas. O conteúdo dos tubos deve ficar claro. Fazer uma prova em branco.

Condição 2 – Adicionar 4 mL de ácido sulfúrico concentrado ao tubo de digestão. Colocar os tubos de digestão em um bloco digestor e cobri-los com um pequeno funil de vidro (diâmetro de 25 mm). Aquecer cuidadosamente até a temperatura atingir cerca de 360 °C e deixar sob

aquecimento por 5 horas. O conteúdo dos tubos deve ficar claro. Fazer uma prova em branco. Essa condição é a normalmente utilizada para análise de solos. Remover os tubos do bloco digestor e deixar esfriar até à temperatura ambiente. Antes de retirar os funis, lavar com cerca de 5 mL de água deionizada.

e) Procedimento para a destilação (a vapor)

- Ligar a resistência do frasco produtor de vapor e regular a quantidade de vapor produzida (com o ajuste do reostato), assegurando que o destilado não esteja quente ao sair do condensador. O condensador deve estar conectado à água corrente para o resfriamento da serpentina.
- Abrir a rolha de escape do vapor localizada sobre o frasco com a resistência elétrica. Conectar o tubo de digestão ao suporte de borracha, verificando se a ponta do tubo de Teflon está mergulhada no líquido dentro do tubo.
- Acrescentar ao tubo de digestão, pela torneira localizada sobre o conjunto de destilação, 15 mL de NaOH 10,0 mol L⁻¹. Fechar a rolha de escape do vapor localizada sobre o frasco com a resistência elétrica, para permitir o fluxo de vapor dentro do sistema. Recolher o destilado em um erlenmeyer contendo 20 mL da solução de ácido bórico e indicador, mantendo a ponta do condensador mergulhada na solução. Interromper a destilação após o volume de destilado ter atingido 40 mL, retirar o frasco de ácido bórico, abrir a rolha para escape do vapor, desconectar o tubo de digestão e enxaguar com água destilada o tubo de Teflon.
- Titular o conteúdo do erlenmeyer (destilado) com a solução padronizada de H₂SO₄. A viragem deve ocorrer de verde para rosa.
- Efetuar o cálculo para determinação da concentração de N em mg kg⁻¹:

$$N \text{ (mg kg}^{-1}\text{)} = \frac{(V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ amostra}} - V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ branco}}) \times F_{\text{ácido}} \times V_{\text{total}} \times 1.000}{V_{\text{destilado}} \times m_{\text{solo}}}$$

em que:

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ amostra}}$ = volume de ácido sulfúrico (mL) gasto na titulação da amostra.

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ branco}}$ = volume de ácido sulfúrico (mL) gasto na titulação da prova em branco.

$F_{\text{ácido}}$ = fator do ácido sulfúrico (mg N mL⁻¹ de ácido).

V_{total} = volume (mL) do extrato de digestão.

$V_{\text{destilado}}$ = volume (mL) da alíquota do extrato destilado.

m_{solo} = massa (g) do solo.

1.000 (g kg⁻¹) = fator de conversão de g para kg.

Como se destilou o volume total do tubo de digestão, então V_{total} é igual a $V_{\text{destilado}}$.

3.4.2 Nitrogênio inorgânico (método da destilação por arraste a vapor)

As possíveis formas de nitrogênio inorgânico presentes em resíduos são íons amônio (NH₄⁺), nitrato (NO₃⁻) e nitrito (NO₂⁻), sendo as únicas aproveitáveis pelas plantas e por isso as de maior interesse vegetal, podendo ser extraídas com diversas soluções de sais ou água. No método descrito, para recuperar quantitativamente essas espécies químicas é utilizado o extrato de cloreto de potássio, que é destilado após a adição de óxido de magnésio, empregado para alcalinizar o meio e converter o amônio em amônia, que é arrastada por vapor de água e recolhida em solução de ácido bórico e indicadores. Em seguida, adiciona-se liga de Devarda ao extrato, para reduzir o nitrato e o nitrito a amônia, que também é arrastada por vapor de água e recolhida em solução de ácido bórico e indicadores.

O borato de amônio é retrotitulado com solução padronizada de ácido sulfúrico. A quantidade de ácido sulfúrico utilizado é proporcional ao amônio, retido na solução de ácido bórico.

Esse procedimento pode ser utilizado indistintamente para análise de resíduos orgânicos, inorgânicos e solos. O método foi descrito de acordo com o proposto por Raj et al. (2001).

Reagentes e soluções

- Solução de cloreto de potássio 1,0 mol L⁻¹ – Dissolver 75 g (± 1 mg) de KCl com cerca de 700 mL de água deionizada. Completar o volume da solução em balão volumétrico de 1 L.

- Óxido de magnésio calcinado – Colocar o MgO em cadinho de porcelana e aquecer a 7.000 °C por 2 horas. Deixar esfriar em dessecador com KOH. Armazenar em frasco fechado, identificar e datar.
- Liga de Devarda – Liga metálica contendo 50 % de Cu, 45 % de Al e 5 % de Zn (peneira 0,074 mm - Mesh 200 – ASTM).
- Mistura indicadora de vermelho de metila e verde de bromocresol – Dissolver 1 g (± 1 mg) de verde de bromocresol e 0,66 g (± 1 mg) de vermelho de metila em 1 L de etanol. Acondicionar em frasco de vidro, identificar e datar.
- Solução de ácido bórico 20 g L⁻¹ e indicador – Dissolver 100 g (± 1 mg) de ácido bórico em cerca de 3 L de água destilada aquecida a 60 °C–700 °C. Esfriar, adicionar 100 mL da mistura indicadora e acrescentar água destilada para completar o volume de 5 L. Acrescentar gota a gota uma solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ até que o ácido bórico indicador adquira coloração vinho-escura (\pm pH = 5,0). Acondicionar em frasco de vidro, identificar e datar.
- Solução de ácido sulfúrico 0,0025 mol L⁻¹ – Dissolver 0,7 mL de ácido sulfúrico concentrado em 5 L de água deionizada. Agitar. Padronizar a solução com THAM (tris-hidroximetil amino metano, massa molar = 121,14 g mol⁻¹) usando vermelho de metila como indicador (dissolver 0,2 g de vermelho de metila em 60 mL de etanol e completar volume para 100 mL com água). Para a padronização da solução de ácido sulfúrico 0,0025 mol L⁻¹, pesar em balança analítica, em béquer de 50 mL, cerca de 0,0090 g (± 1 mg) de THAM. Adicionar cerca de 10 mL de água deionizada para dissolver o reagente, 5 gotas do indicador vermelho de metila e proceder à titulação com H₂SO₄, utilizando agitação magnética, até o ponto de viragem de amarelo para laranja. Repetir três vezes a titulação, pois o ponto de viragem é de difícil visualização. Corrigir a massa de THAM titulada levando em consideração a pureza do reagente. A padronização da solução de H₂SO₄ é dada por

$$C_{\text{H}_2\text{SO}_4} = (\text{mmol mL}^{-1}) = \frac{m_{\text{THAM}} \times 0,5}{V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times 0,12114}$$

em que:

m_{THAM} = massa (g) de THAM usada na padronização do ácido sulfúrico.

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ = volume (mL) do ácido sulfúrico gasto na titulação.

0,5 = fator para a reação do ácido sulfúrico com o THAM (0,5 mmol de H_2SO_4 por mmol de THAM).

0,12114 = massa molar do THAM (g mmol^{-1}).

A concentração da solução de H_2SO_4 é expressa (fator do ácido sulfúrico) em miligramas de N por mililitro do ácido gasto na titulação multiplicando a concentração (em mmol mL^{-1}) do ácido por 28,02 (mg N mmol^{-1} de H_2SO_4). Identificar e datar o frasco.

Procedimento

- Preparação do extrato em KCl – Pesar uma massa de 5 g (± 1 mg) do resíduo ou de solo in natura em frasco de plástico com tampa, adicionar 50 mL da solução de KCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$. Colocar o frasco de plástico tampado em um agitador com movimento circular horizontal a 220 rpm por 60 minutos e deixar em repouso por 30 minutos, antes de fazer a análise. Fazer provas em branco para as determinações de cada fração de N inorgânico analisada (10 mL de água deionizada e os reagentes específicos para cada determinação, recolher o destilado em solução de ácido bórico indicador).
- Procedimento para a destilação (a vapor) – Ligar a resistência do frasco produtor de vapor, regular a quantidade de vapor produzida (com o ajuste do reostato), assegurando que o destilado não esteja quente ao sair do condensador. O condensador deve estar conectado à água corrente para o resfriamento da serpentina.
- Determinação do nitrogênio na forma de amônio (NH_4^+) – Transferir com pipeta volumétrica 10 mL da alíquota do extrato (sobrenadante). Adicionar 0,20 g (± 1 mg) de MgO , com medida calibrada.
- Conectar o balão de destilação ao suporte, verificando se a ponta do tubo de vidro está mergulhada no líquido dentro do tubo. Fechar a rolha de escape do vapor localizada sobre o conjunto de destilação, para permitir o fluxo de vapor dentro do sistema. Recolher o destilado em um béquer contendo 5 mL da solução de ácido bórico e indicador, mantendo a ponta do condensador mergulhada na solução. Interromper a destilação após o volume

de destilado ter atingido 40 mL, retirar o frasco de ácido bórico e abrir a rolha para o escape do vapor.

- Determinação do nitrogênio na forma de nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) – Utilizar o mesmo extrato de KCl no qual já se determinou o nitrogênio na forma de amônio. Manter o balão de destilação conectado ao conjunto de destilação, acrescentar pela abertura lateral do balão de destilação 0,20 g (± 1 mg) da liga de Devarda e proceder à destilação.
- Fechar a rolha de escape do vapor localizada sobre o conjunto de destilação, para permitir o fluxo de vapor dentro do sistema. Recolher o destilado em outro béquer contendo 5 mL da solução de ácido bórico e indicador, mantendo a ponta do condensador mergulhada na solução. Interromper a destilação após o volume do destilado ter atingido 40 mL, retirar o frasco de ácido bórico e abrir a rolha para o escape do vapor.
- Titular os conteúdos dos béqueres (destilado) com a solução padronizada de H_2SO_4 . A viragem deve ocorrer de verde para rosa.
- Efetuar o seguinte cálculo para a determinação da concentração de N em mg kg^{-1} ou mg dm^{-3} :

$$\text{N (mg kg}^{-1} \text{ ou mg dm}^{-3}\text{)} = \frac{(V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ amostra}} - V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ branco}}) \times F_{\text{ácido}} \times V_{\text{total}} \times 1.000}{V_{\text{destilado}} \times m_{\text{solo}}}$$

em que:

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ amostra}}$ = volume de ácido sulfúrico (mL) gasto na titulação da amostra.

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ branco}}$ = volume de ácido sulfúrico (mL) gasto na titulação da prova em branco.

$F_{\text{ácido}}$ = fator do ácido sulfúrico (mg N mL^{-1} de ácido).

V_{total} = volume (mL) do extrato de digestão.

$V_{\text{destilado}}$ = volume (mL) da alíquota do extrato destilado.

m_{solo} = massa do solo (g) ou o volume do solo (cm^3).

1.000 (g kg^{-1}) = fator de conversão de g para kg (ou de cm^3 para dm^3).

3.5 Determinação de carbono orgânico

O método descrito a seguir baseia-se na oxidação por via úmida do carbono orgânico por dicromato de potássio, na presença de ácido sulfúrico, com aquecimento externo, adotando em linhas gerais o que se prescreve para a determinação da demanda química de oxigênio em águas (DQO), norma NBR 10357 (ABNT, 1988). O aquecimento é conduzido sob refluxo para condensar os vapores e evitar a concentração das soluções reagentes e, conseqüentemente, impedir que a temperatura de ebulição aumente. Minimiza-se assim a decomposição térmica do ânion $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.

As condições operacionais desse método determinam sua exatidão e precisão no resultado de carbono medido. Considera-se que o tempo de aquecimento de 30 minutos sob ebulição da mistura de reagentes e amostra seja adequado para incluir a maior parte do carbono orgânico dos materiais analisados. Chega-se assim mais próximo de um teor de carbono orgânico total, mais do que ao se utilizar apenas o calor fornecido pela diluição do ácido sulfúrico concentrado, no método tradicional de Walkey-Black (ABNT, 1989).

Reagentes e soluções

- Solução padrão de dicromato de potássio $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,020 mol L^{-1} – Secar a 110 °C–120 °C uma quantidade suficiente de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ p.a. durante pelo menos 2 horas e resfriar em dessecador. Pesar 5,8833 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e dissolver em 500 mL de água destilada, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL, completar o volume e homogeneizar a solução. Identificar e datar.
- Solução de sulfato ferroso amoniacal 0,1 mol L^{-1} – Dissolver 39,2 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 500 mL de água destilada, adicionar cuidadosamente 5 mL de H_2SO_4 concentrado, esfriar, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL, completar o volume e homogeneizar. Acondicionar a solução em frasco escuro com tampa. Esse reagente é instável e deve ser padronizado antes do seu uso.
- Solução do indicador difenilamina sulfonato de bário – Dissolver 0,329 g de difenilamina em 100 mL de água destilada e 1 mL de H_2SO_4 concentrado. Deixar decantar e transferir o sobrenadante para frasco conta-gotas. Identificar e datar.

- Solução de dicromato de potássio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ – Dissolver 58,8 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em 500 mL de água destilada, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume. Acondicionar em frasco de vidro, identificar e datar.
- Solução de ácido fosfórico (1 + 3 v/v) – Dissolver cuidadosamente 250 mL de H_3PO_4 concentrado em 500 mL de água destilada, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume. Acondicionar em frasco de vidro, identificar e datar.

Padronização da solução $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$

- Transferir uma alíquota de 10 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ para um frasco erlenmeyer de 250 mL, adicionar 10 mL de H_3PO_4 (1 + 3), 1 mL de difenilaminasulfonado de bário e agitar. Titular o excesso de oxidante com solução de sulfato ferroso amoniacal $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até o ponto de viragem, que é do azul para o verde. Sendo V o volume em mililitros do titulante gasto, a concentração exata (C) da solução de Fe^{2+} em mol L^{-1} será

$$\mathbf{C \text{ (mol L}^{-1}\text{)} = 10 \times 0,02 \times 6/V = 1,2/V}$$

Preparo da amostra

- Os materiais orgânicos são analisados após secagem em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ – $65 \text{ }^\circ\text{C}$ até peso constante. Depois da secagem, os produtos são moídos para passar em peneira de 0,5 mm de abertura de malha.

Procedimento

- Pesar uma massa de amostra que contenha de 40 mg a 150 mg de carbono orgânico (entre 0,5 g e 2,0 g de amostra de fertilizante orgânico) e transferir para um frasco erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada.
- Adicionar 50 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,20 \text{ mol L}^{-1}$ (esses limites determinam uma massa de, no máximo, 500 mg para produtos contendo 300 mg C kg^{-1} (30 %) e 2.000 mg para 75 mg C kg^{-1}).
- Adicionar cuidadosamente 50 mL de H_2SO_4 concentrado agitando suavemente o frasco.

- Acoplar o frasco ao conjunto condensador, aquecer até ebulição durante 30 minutos, esfriar e retirar do conjunto.
- Transferir a amostra para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 100 mL de água destilada, esfriar, completar o volume e homogeneizar.
- Conduzir uma prova em branco omitindo a adição da amostra.
- Transferir uma alíquota de 10 mL do sobrenadante para um frasco erlenmeyer de 250 mL, adicionar 10 mL de H_3PO_4 (1 + 3 v/v), 1 mL de difenilaminasulfonado de bário e agitar. Titular o excesso de oxidante com solução de sulfato ferroso amoniacal $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até o ponto de viragem, que é do azul para o verde. O cálculo do teor de carbono orgânico é efetuado com base na premissa de que cada mol de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ consumido reagiu com 1,5 mol de carbono orgânico.
- Cálculo do teor de carbono orgânico:

$$\text{Carbono orgânico} = \frac{(V_b - V_a) \times C \times 1,5 \times 12 \times 25}{6 \times m}$$

ou

$$\text{Carbono orgânico} = \frac{(V_b - V_a) \times C \times 75}{m}$$

em que:

V_b = volume (mL) gasto da solução de Fe^{2+} para titulação da prova em branco.

V_a = volume (mL) gasto da solução de Fe^{2+} para titulação da amostra.

C = concentração da solução de Fe^{2+} padronizada (em mol L^{-1}).

1,5 = fator da reação entre C e Cr_2O_4 .

12 = massa molar do carbono.

25 = fator de diluição, 10 mL em 250 mL.

6 = número de elétrons envolvidos na reação de Fe e Cr_2O_4 .

m = massa (g) da amostra.

Fertilizantes organominerais

- A principal questão que se coloca em relação a esse tipo de fertilizante orgânico é a presença do íon cloreto, que reage com o íon $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ e, assim, causa uma superestimativa do teor de carbono orgânico.

- A forma mais racional de superar essa interferência parece ser a determinação do íon Cl^- e o desconto de sua influência com base na estequiometria de sua reação com íon $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Embora essa alternativa envolva uma determinação adicional, é mais conveniente que tentar efetuar lavagens para eliminar o íon Cl .
- Considerando teores expressos em g kg^{-1} , a correção será:

Teor de C corrigido = teor de carbono determinado - 0,084 teor de Cl^-

A determinação de cloreto pode ser efetuada conforme o descrito nos métodos oficiais brasileiros de análise de fertilizantes (BRASIL, 1988).

Descarte de resíduos

Para que uma massa razoável de material seja analisada, possibilitando boa representatividade do material analisado, uma quantidade de dicromato relativamente elevada tem que ser empregada na oxidação da amostra. Isso, contudo, causa um sério problema de poluição, pois o Cr na forma hexavalente é extremamente tóxico. Desse modo, uma determinação de carbono orgânico pelo procedimento descrito anteriormente gera uma grande quantidade de resíduo tóxico e exige um trabalho adicional de tratamento antes do descarte.

Uma forma adequada é juntar matéria orgânica a um volume de solução de dicromato que reagiu com a amostra, para se consumir o oxidante residual. Desse modo, converte-se Cr hexavalente para a forma trivalente menos tóxica.

Para cada litro de dicromato residual, recomenda-se adicionar 4 g de açúcar cristal de uso doméstico, uma fonte barata de carbono orgânico. Deixa-se em repouso por alguns dias e testa-se se a reação está completa titulando uma alíquota com solução de Fe^{2+} como se fosse uma amostra.

Completando-se o processo, ajusta-se o pH da solução tratada a 7,5–8,0, com solução concentrada de NaOH . Deixa-se decantar o precipitado obtido podendo-se descartar a solução sobrenadante. O precipitado seco é reservado para ser depositado num local apropriado para descarte de resíduos sólidos.

Recomenda-se fazer o tratamento da solução residual de dicromato imediatamente após a análise, para não se armazenar grandes volumes do resíduo, o que torna o tratamento de descarte mais difícil.

3.6 Determinação de macronutrientes, micronutrientes e elementos tóxicos

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (US-EPA) possui dois métodos muito usados para a digestão de amostras de solos, sedimentos e resíduos. Um deles é o método convencional (SW 846 - método 3050B) e o outro é um método alternativo que utiliza a técnica de aquecimento por microondas (SW 846 - método 3051A). Ambos não permitem a dissolução completa das amostras.

No procedimento de digestão pelo método 3050B, além do ataque por ácido nítrico, a matéria orgânica é oxidada com água oxigenada, liberando os metais ligados à fração de óxidos e a outras frações minerais, com exceção da silicatada. Pelo método 3051A, a oxidação da matéria orgânica é feita pelo ácido nítrico sob alta temperatura e pressão, mas a fração silicatada também não é solubilizada. Portanto, o teor total real dos elementos no solo não pode ser quantificado por esses métodos, mas ambos têm sido utilizados, com sucesso, para determinar o teor de metais em amostras de solos que foram contaminadas pela ação antropogênica. São de uso relativamente simples e adequados para as condições de rotina dos laboratórios.

A técnica de digestão que usa aquecimento por microondas está entre os métodos mais recentes para a dissolução das amostras de solo. As vantagens dessa técnica são: menor tempo de digestão, melhor controle das contaminações, dissolução mais completa das amostras e menor perda dos elementos voláteis. Entretanto, os métodos tradicionais que empregam béqueres e placas de aquecimento ainda continuam sendo muito utilizados na maioria dos laboratórios. Têm como principal desvantagem o tempo muito longo para completar a digestão, o que pode provocar riscos de perdas e contaminações. Outro procedimento desenvolvido, também para digestão em forno de microondas (SW 846 - método 3052), utiliza uma mistura em proporção variável dos ácidos nítrico e fluorídrico, permitindo a dissolução total da amostra. No entanto, esse método, que requer um equipamento de microondas que apresente um sistema de controle de temperatura bastante eficiente e frascos especiais para a digestão, não será discutido neste capítulo.

Os métodos 3050B e 3051A permitem a determinação dos elementos Al, As, Ba, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Na, Pb, Se, Tl, V e Zn por ICP-AES, ICP-MS e espectrofotometria de absorção

atômica, com chama (FAAS) ou com forno de grafite (GF-AAS). O procedimento de determinação descrito neste capítulo faz uso da técnica de ICP-AES. Quando outra técnica de medida for utilizada, deve-se levar em consideração suas condições experimentais e as interferências potenciais no preparo das respectivas curvas de calibração. O capítulo 5, parte 2, descreve o procedimento de determinação por ICP-MS. Outros elementos, como P e S, também podem ser determinados, principalmente pelo método que emprega aquecimento por microondas, pois o sistema é fechado, o que evita perdas por volatilização.

a) MÉTODO SW 846 – 3050B

Aparelhos e material

- Erlenmeyers com capacidade de 125 mL.
- Vidros de relógio.
- Pequenos funis de vidro – são um bom substituto ao vidro de relógio, para a etapa de refluxo.
- Placa de aquecimento.
- Papel de filtro para filtração lenta, faixa azul.
- Pipetas volumétricas, balões volumétricos, béqueres e provetas, para preparo das soluções
- A vidraria deve ser lavada com detergente e água e, em seguida, com uma solução diluída de HCl ou, mesmo, ser deixada em solução de HNO₃ ou HCl a 10 % v/v, de um dia para outro.

Reagentes e soluções

- Ácido nítrico concentrado (65 % m/m).
- Ácido clorídrico concentrado (36 % m/m).
- Água oxigenada (30 % m/m).
- Solução de ácido nítrico 1 + 1 (v/v) – Adicionar em um béquer 100 mL de água deionizada e acrescentar lentamente 100 mL de ácido nítrico concentrado. Essa solução é suficiente para 20 amostras.
- Solução de ácido clorídrico 1 + 100 (v/v) – Adicionar em um béquer 200 mL de água deionizada e acrescentar lentamente

2 mL de ácido clorídrico concentrado. Essa solução é suficiente para cerca de 20 amostras.

Os ácidos concentrados devem ser de boa qualidade e procedência para não afetar os teores dos elementos de baixa concentração.

Procedimento para determinação em ICP-OES ou F-AAS

- Adicionar 500 mg (com precisão de 1 mg) de amostra de solo moída e seca em um erlenmeyer de capacidade para 125 mL.
- A amostra deve estar bem moída e homogênea, preferencialmente moída em almofariz.
- Quantidades maiores, por exemplo, um grama, podem ser utilizadas nesse procedimento, devendo levar isso em conta no cálculo da concentração final no solo (nível de diluição).
- Adicionar 10 mL da solução 1 + 1 (v/v) de ácido nítrico, misturar e cobrir o frasco com vidro de relógio ou com um funil.
- Aquecer a aproximadamente 95 °C em placa de aquecimento por cerca de 10 a 15 minutos, sem ebulição.
- Esfriar, adicionar 5 mL de ácido nítrico concentrado, cobrir com o vidro de relógio e colocar sob refluxo por 30 minutos. Repetir a adição de ácido e colocar sob refluxo novamente. Repetir esse passo até cessar os fumos marrons que indicam que a reação com HNO_3 se completou.
- Evaporar a solução para cerca de 5 mL, sem ebulição, ou aquecer a $95\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ por duas horas. Não deixar secar.
- Esfriar, adicionar 2 mL de água e 3 mL de água oxigenada, cobrir com o vidro de relógio, aquecer até a reação com a H_2O_2 diminuir e esfriar em seguida. É preciso tomar cuidado para não ocorrer efervescência excessiva e não haver perdas.
- Continuar adicionando a água oxigenada em alíquotas de 1 mL e aquecer até que a reação diminua ou até que a aparência da amostra não se altere. Não adicionar mais que 10 mL de água oxigenada.
- Evaporar a solução para cerca de 5 mL, sem ebulição, ou aquecer a $95\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ por duas horas. Não deixar secar.
- Adicionar 5 mL de ácido clorídrico concentrado e 10 mL de água deionizada e cobrir com o vidro de relógio. Colocar sob refluxo por 15 minutos sem ebulição.

- Esfriar e filtrar em papel de filtro qualitativo de filtração lenta em um balão volumétrico de 50 mL ou 100 mL. Lavar o erlenmeyer e o papel de filtro com pequenas porções de solução de HCl 1 + 100 (v/v) e diluir.

A solução também pode ser centrifugada, para evitar problemas de entupimento do nebulizador.

Para cada conjunto de amostras, fazer uma prova em branco e uma amostra controle.

- A solução resultante está pronta para a determinação por ICP-OES para os seguintes elementos: Al, As, Ba, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni, Na, Pb, Se, Tl, V e Zn. Para determinação por ICP-MS, a solução deverá ser diluída, com HNO₃ 1 % (v/v), para uma relação de 1 g da amostra para 1.000 mL de solução, ou mais, se o fertilizante ou resíduo for muito salino (detalhes no capítulo 5, parte 2).

b) MÉTODO SW 846 – 3051A

Aparelhos e material

- Forno de microondas especial para laboratório, com potência máxima de 600 W ou de 950 W, equipado com bandeja rotatória de 12 frascos com capacidade de 120 mL cada e válvulas de segurança que suportem cerca de 1,37 MPa (200 psi) de pressão.

Nota: por causa do rápido avanço da tecnologia de microondas, recomenda-se consultar o fabricante do equipamento a ser usado sobre o sistema e as condições de digestão para a análise com o método 3051A da EPA. Normalmente, esse método faz parte da programação dos equipamentos comerciais.

Atenção: os fabricantes de fornos de microondas para laboratório apresentam recomendações operacionais e cuidados específicos que devem ser consultados pelo analista para o manuseio seguro do equipamento e dos frascos. Esse tipo de equipamento pode provocar explosões.

- Papel de filtro para filtração lenta, faixa azul.
- Pipetas volumétricas, balões volumétricos, béqueres e provetas, para preparo das soluções.

Nota: a vidraria deve ser lavada com detergente e água e, em seguida, com solução diluída de HCl ou deixada em solução de HNO₃ ou HCl 10 % v/v, de um dia para outro.

Procedimento

- Pesar 500 mg (com precisão de pelo menos 1 mg) da amostra de solo seca e moída e transferir para os frascos de digestão.
- A amostra deve estar bem moída e homogênea, preferencialmente moída em almofariz.
- Para facilitar a transferência do material para os frascos de digestão, utilizar papel manteiga na forma de uma espátula.
- Adicionar 10 mL de ácido nítrico concentrado (65 % m/m). Antes de fechar os frascos, deixar em repouso por cerca de 15 minutos. Entretanto, se ainda houver reação violenta, aguardar até que as condições reacionais se amenizem.
- O número de frascos depende da potência do equipamento. Normalmente, os equipamentos modernos possuem frascos e programação especiais para esse tipo de análise. Consulte o manual e o fabricante para as dúvidas. Colocar sempre uma prova em branco e uma amostra controle para cada bateria de amostras.
- Após o término da programação, resfriar os frascos até alcançar uma pressão de cerca de 69 kPa (10 psi) e retirar a tampa. A abertura deve ser cuidadosa e realizada sob exaustão.
- Transferir a solução dos frascos quantitativamente com água para balões volumétricos de 50 mL, diluir com água e filtrar antes da determinação.
- A tampa também contém solução que deve ser lavada com água e transferida para o balão.
- Determinação por ICP-OES.

Reagentes e soluções

- Soluções padrão estoque – As soluções estoque podem ser adquiridas prontas (Merck, Spex e outras com certificado), podem ser preparadas com o elemento padrão dissolvido (Titrisol-Merck, Diluit-JT Baker ou similar) ou podem ser preparadas com os metais puros ou com sais de alta pureza (pelo menos 99,99 %).
- Solução intermediária – Transferir os volumes da solução estoque de cada elemento a ser determinado para um balão de 100 mL, como descrito na Tabela 1, adicionar 10 mL de ácido nítrico

concentrado (65 % m/m) e completar o volume com água. Essa solução pode ser feita levando-se em conta os elementos que se deseja determinar. A solução intermediária descrita na Tabela 1 contém os macronutrientes e micronutrientes presentes no solo, bem como alguns elementos considerados potencialmente tóxicos.

Tabela 1. Volumes da solução estoque empregados para a preparação de 100 mL da solução intermediária e as concentrações das soluções estoque e intermediária utilizadas para o preparo das soluções de trabalho.

Elemento	Volume da solução (mL)	Concentração da solução estoque (mg L ⁻¹)	Concentração na solução intermediária (mg L ⁻¹)
P	5,00	5.000	250
S	5,00	5.000	250
Ca	15,00	5.000	750
Mg	10,00	5.000	500
K	10,00	5.000	500
Cu	1,00	1.000	10
Fe	5,00	1.000	50
Mn	5,00	1.000	50
Zn	1,00	1.000	10
Al	5,00	1.000	50
Mo	0,50	1.000	5
Cd	0,50	1.000	5
Cr	0,50	1.000	5
Ni	0,50	1.000	5
Pb	0,50	1.000	5
Co	0,50	1.000	5

- Soluções padrão de trabalho para o método 3050B – Transferir 0; 2,0 mL; 5,0 mL; 8,0 mL e 10,0 mL da solução intermediária para balões de 100 mL, identificados respectivamente por solução padrão 1, 2, 3, 4 e 5. Adicionar 5 mL de ácido nítrico concentrado (65 % m/m) e 5 mL de ácido clorídrico concentrado (36 % m/m) e completar o volume com água. As soluções de trabalho utilizadas na construção da curva de calibração contêm as concentrações no extrato ou no solo, indicadas na Tabela 2.
- Soluções padrão de trabalho para o método 3051A – Transferir 0; 2,0 mL; 5,0 mL; 8,0 mL e 10,0 mL da solução intermediária

para balões de 100 mL, identificados respectivamente por solução padrão 1, 2, 3, 4 e 5. Adicionar 10 mL de ácido nítrico concentrado (65 % m/m) e completar o volume com água. As soluções de trabalho utilizadas na construção da curva de calibração contêm as concentrações no extrato ou no solo, indicadas na Tabela 2.

Tabela 2. Volumes empregados da solução intermediária para a preparação das soluções padrão de trabalho e as concentrações das soluções padrão utilizadas para a calibração do espectrômetro de ICP e correspondentes no solo.

Solução padrão de trabalho	1					2				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	Concentração na solução padrão					Concentração no solo ⁽¹⁾				
Elemento	mg L ⁻¹					g kg ⁻¹				
P	0	5,0	12,5	20,0	25,0	0	0,50	1,25	2,00	2,50
S	0	5,0	12,5	20,0	25,0	0	0,50	1,25	2,00	2,50
Ca	0	15,0	37,5	60,0	75,0	0	1,50	3,75	6,00	7,50
Mg	0	10,0	25,0	40,0	50,0	0	1,00	2,50	4,00	5,00
K	0	10,0	25,0	40,0	50,0	0	1,00	2,50	4,00	5,00
	mg kg ⁻¹									
Cu	0	0,20	0,50	0,80	1,0	0	20,0	50,0	80,0	100
Fe	0	1,0	2,5	4,0	5,0	0	100	250	400	500
Mn	0	1,0	2,5	4,0	5,0	0	100	250	400	500
Zn	0	0,20	0,50	0,80	1,0	0	20,0	50,0	80,0	100
Al	0	1,0	2,5	4,0	5,0	0	100	250	400	500
Mo	0	0,10	0,25	0,40	0,50	0	10,0	25,0	40,0	50,0
Cd	0	0,10	0,25	0,40	0,50	0	10,0	25,0	40,0	50,0
Cr	0	0,10	0,25	0,40	0,50	0	10,0	25,0	40,0	50,0
Ni	0	0,10	0,25	0,40	0,50	0	10,0	25,0	40,0	50,0
Pb	0	0,10	0,25	0,40	0,50	0	10,0	25,0	40,0	50,0
Co	0	0,10	0,25	0,40	0,50	0	10,0	25,0	40,0	50,0

⁽¹⁾ Concentrações no solo calculadas tomando 500 mg de amostra e diluindo a solução final de medida para 50 mL.

- As concentrações das soluções de trabalho sugeridas devem ser ajustadas para cada elemento de acordo com as condições de trabalho do equipamento utilizado.

Procedimento final

- Ajustar o espectrômetro de ICP utilizando as linhas espectrais dos elementos de interesse. As condições de operação devem

ser otimizadas conforme o tipo e a marca do equipamento. Para maior detalhamento, consulte o manual de operação do seu equipamento.

- Como as determinações também podem ser feitas por espectrometria UV-visível e espectrofotometria de absorção atômica em chama ou em forno de grafite, os equipamentos devem ser ajustados adequadamente conforme o elemento a ser determinado. Verifique o manual de operação de seu equipamento.
- Usar corretor de fundo, de acordo com as instruções operacionais do equipamento.
- Fazer a curva de calibração utilizando as soluções padrão de trabalho e as concentrações equivalentes no solo. Geralmente os espectrômetros de emissão em plasma fornecem a curva de calibração, calculada por regressão. Fazer a calibração utilizando as soluções padrão de trabalho, empregando as concentrações equivalentes no solo (mg kg^{-1}).
- Caso a massa utilizada no método EPA-3050B seja de 1 g, as concentrações no extrato em mg L^{-1} devem ser multiplicadas por 50, que é a razão de diluição de 1 g para 50 mL. Portanto, os resultados na Tabela 2 são diferentes para a concentração no solo.

3.7 Determinação de cloro na forma de cloreto

É importante lembrar que o cloro residual relaciona-se ao cloro adicionado no sistema de tratamento de água. Por isso, é interessante estudar sua participação na concentração do lodo de esgoto.

O cloreto é um micronutriente essencial à vida vegetal, pois tem função importante como cofator na evolução do oxigênio nos processos fotossintéticos, ao lado do manganês. O interesse na determinação do cloreto aponta para as modificações metabólicas provocadas por sua presença em concentrações elevadas no meio nutritivo. Existe mais preocupação com sua toxicidade do que com sua deficiência, pois o cloreto é um micronutriente imóvel, que se acumula nas folhas das plantas com o tempo. A toxidez de cloreto manifesta-se pela queima das extremidades e margens das folhas, acompanhada de bronzeamento prematuro e necrose (MALAVOLTA, 1976).

a) Determinação de cloreto – método de Mohr

Reagentes

- Solução de cromato de potássio a 5 % – Transferir 5 g de K_2CrO_4 para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver com água, completar o volume. Homogeneizar.
- Solução de cloreto de sódio 0,100 mol L⁻¹ – Transferir 5,8443 g de NaCl, secado a 105 °C–110 °C por 1 hora, para balão volumétrico de 1 L, dissolver com água destilada, completar o volume. Homogeneizar.
- Solução de nitrato de prata 0,05 mol L⁻¹ – Transferir 8,5 g de $AgNO_3$ para balão volumétrico de 1 L, dissolver com água destilada, completar o volume. Homogeneizar. Conservar em frasco escuro.

Padronização da solução de $AgNO_3$

- Transferir 20 mL de solução de NaCl para frasco erlenmeyer de 300 mL, adicionar 60 mL–70 mL de água destilada, 1 mL de solução de K_2CrO_4 a 5 % e titular com a solução de $AgNO_3$ até a formação e persistência de um precipitado de coloração pardo-avermelhada (Ag_2CrO_4). Calcular a normalidade da solução de $AgNO_3$.

Procedimento

- Transferir 2,500 g da amostra para um papel de filtro (faixa branca ou equivalente), adaptado em funil, e colocar sobre um balão volumétrico de 250 mL. Lavar com 10 porções sucessivas de 15 mL–20 mL de água quente (90 °C–95 °C), esfriar, completar o volume e homogeneizar. Transferir de 25 mL a 50 mL da solução para um frasco erlenmeyer de 300 mL. Ajustar o volume para 100 mL com água destilada e adicionar 1 mL de solução de K_2CrO_4 a 5 %. Titular com a solução padronizada de $AgNO_3$ até a formação e persistência de um precipitado de coloração pardo-avermelhada. Anotar o volume gasto. Calcular a porcentagem do cloro mediante a expressão

$$\% \text{ Cl} = \frac{V \times N \times 3,545}{m}$$

em que:

V = volume (mL) da solução AgNO_3 gasto na titulação.

N = normalidade da solução de AgNO_3 .

m = massa (g) da amostra contida na alíquota.

b) Método potenciométrico direto com uso de eletrodo seletivo

Nesse método, faz-se uma curva de calibração usando padrões de CaCl_2 com concentrações conhecidas (0; 0,1 mmol L⁻¹; 0,2 mmol L⁻¹; 0,5 mmol L⁻¹ e 1,0 mmol L⁻¹) e com a força iônica mantida constante em meio tamponado (acetato de sódio e ácido acético).

Mede-se o potencial (Ecel) de cada padrão e da amostra, utilizando um potenciômetro, um eletrodo de referência de prata/cloreto de prata e um eletrodo de trabalho (eletrodo de íon seletivo e eletrodo de prata).

Esse procedimento pode ser utilizado indistintamente para análise de resíduos orgânicos, inorgânicos e solos. O método foi descrito de acordo com o proposto por Raij et al. (2001).

Reagentes e soluções

- Solução padrão de cloreto 50 mmol L⁻¹.
- Água deionizada.

Procedimento

- Obtenção do extrato da amostra – Transferir, com cachimbo, 10 g (\pm 1 mg) de resíduo ou de solo secado a 600 °C e moído (peneira 0,500 mm – Mesh 35 – ASTM) para frasco plástico com tampa. Adicionar 20 mL de água deionizada e agitar em um agitador com movimento circular horizontal a 220 rpm, por 1 hora. Deixar em repouso por 30 minutos e filtrar em papel filtro de filtração lenta.
- Solução padrão de cloreto 50,0 mmol L⁻¹ – Pesar 7,35 g (\pm 1 mg) de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, transferir para balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água deionizada.
- Preparar as soluções padrão de 0; 0,5 mmol L⁻¹; 1,0 mmol L⁻¹; 1,5 mmol L⁻¹ e 2,0 mmol L⁻¹ de cloreto, a partir da solução padrão de 50,0 mmol L⁻¹.

- Solução tampão – Adicionar 5,7 mL de ácido acético e 13,66 g (± 1 mg) de acetato de sódio e completar com água deionizada o volume de 1 L em balão volumétrico.
- Para calibração do equipamento, adicionar 3 mL de cada solução padrão com 9 mL da solução tampão. Deixar em repouso por 10 minutos. Proceder à calibração do equipamento de acordo com o manual do fabricante.
- Depois, para determinar a concentração de cloreto na amostra, adicionar 3 mL do extrato com 9 mL da solução tampão. Deixar em repouso por 10 minutos e proceder à leitura.
- Cálculo da concentração de cloreto:

$$C \text{ (mg kg}^{-1} \text{ de resíduo)} = C \text{ (mmol L}^{-1}) \times 71$$

em que 71 é o fator de correção para a massa de cloreto ($2 \times 35,45$), pois 2 é a relação volume/massa (volume em mL e massa em g) na preparação do extrato, e 35,45 g é a massa molar do cloro.

Opcionalmente, a determinação de cloreto pode ser feita por cromatografia de íons.

3.8 Determinação da capacidade de troca de cátions (CTC)

Equipamentos

- Funil de Büchner com 5 cm de diâmetro.
- Kitassato de 1.000 mL.
- Bomba de vácuo.
- Agitador de Wagner.

Reagentes e soluções

- Carvão ativado p.a.
- Solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ – Diluir 42 mL de ácido clorídrico em água e completar o volume para 1.000 mL.
- Solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de acetato de cálcio – Pesar 88,1 g do sal monoidratado, dissolver em água em recipiente de 1.000 mL, lavando o volume a 900 mL aproximadamente. Ajustar o pH da

solução a 7,0 e completar o volume a 1.000 mL em balão volumétrico.

- Solução 0,1 N de hidróxido de sódio padronizada.

Procedimento

- Transferir 5 g de fertilizante orgânico, secado a 65 °C e moído, e 2 g de carvão ativado para frasco de erlenmeyer de 250 mL.
- Adicionar 100 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹ medido em proveta e agitar durante 30 minutos no agitador Wagner.
- Filtrar imediatamente, usando sucção, com um conjunto de filtração a vácuo, colocando sobre a placa do funil de Büchner um disco de papel de filtro faixa azul, ou equivalente, de diâmetro suficiente para cobrir o fundo, com excesso de 2 mm–3 mm.
- Lavar com porções sucessivas de água destilada o material orgânico retido no funil, desagregando-o. Proceder à nova lavagem apenas quando todo o líquido da lavagem anterior tiver sido drenado.
- Efetuar um número de lavagens suficiente para obter um volume de 400 mL no kitassato.
- Terminada a fase de lavagens, trocar o kitassato em uso por outro de igual capacidade.
- Lavar com 10 porções (de 10 mL cada uma) de acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ o material orgânico, em vácuo reduzido, para permitir lenta percolação. Nova porção de solução de acetato de cálcio só será adicionada depois que a porção anterior tiver sido drenada para o kitassato.
- Lavar o material orgânico com porções de água destilada até totalizar um volume de 300 mL, aproximadamente, no kitassato.
- Transferir a solução contida no kitassato para erlenmeyer de 500 mL e titular com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ padronizada, empregando fenolftaleína como indicador.
- Conduzir uma prova em branco, empregando o carvão ativado e omitindo a presença da amostra.
- Calcular a CTC com a expressão

$$\text{CTC (mmol L}^{-1}\text{)} = \frac{(V_a - V_b) \times 0,1 \times 1.000}{m}$$

em que:

V_a = volume da solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ gasto na titulação da solução da amostra.

V_b = volume da solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ gasto na titulação da prova em branco.

m = massa (g) de fertilizante empregada.

4. Patógenos em resíduos

No Brasil, a responsabilidade pelo controle e pela definição de procedimentos analíticos de saúde pública é da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

4.1 Coliformes

a) Método P/A (presença/ausência)

Esse método tem como objetivo a detecção de coliformes (totais e fecais) em amostras de água, com a aplicação do teste de presença/ausência (P/A) na avaliação da qualidade bacteriológica de águas destinadas ao consumo humano.

Aparelhagem

- Equipamentos, vidrarias, outros.
- Balança, banho-maria (44,5 °C), destilador de água ou aparelho de desionização, equipamentos para esterilização (autoclave, estufa de esterilização), incubadora bacteriológica termostatazida, medidor de pH, balões, frascos para o meio presuntivo, frasco para coleta da amostra, tubos de Durham, tubos de ensaio, alças de inoculação, bico de Bunsen ou similar, estantes, estojo para pipetas, tela de amianto, termômetros, tripé.

Meio de cultura

- Caldo P/A

Caldo lactosado	39,0 g
Caldo lauril	52,5 g
Púrpura de bromocresol	0,0255 g
Água destilada	1.000 mL

- Caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2 %

Peptona	10,0 g
Lactose	10,0 g
Bile de boi desidratada	20,0 g
Verde brilhante	0,0133 g
Água destilada	1.000 mL

- Meio E.C.

Triptose ou trypticase	20,0 g
Lactose	5,0 g
Mistura de sais biliares ou sais biliares nº 3	1,5 g
Fosfato dipotássio (K_2HPO_4)	4,0 g
Fosfato monopotássio (KH_2PO_4)	1,5 g
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g
Água destilada	1.000 mL

Procedimento

- Antes de iniciar o exame, desinfetar a bancada de trabalho.
- Dispor sobre a bancada de trabalho o material necessário para a execução do exame.
- Identificar os frascos contendo 50 mL de P/A, com o número da amostra.
- Acender o Bico de Bunsen para manter o ambiente asséptico.
- Homogeneizar a amostra, suavemente, no mínimo 25 vezes.
- Dosar 100 mL da amostra em proveta estéril e proceder à inoculação, vertendo cuidadosamente esse volume no frasco contendo o caldo P/A, tomando cuidado para que não ocorra entrada de ar no tubo de Durham contido no interior do frasco.
- Após a inoculação das amostras, efetuar a incubação a $35\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$, durante 24 horas.
- Após esse período de incubação, efetuar a 1ª leitura, considerando como resultado positivo à resposta a acidificação do meio (evidenciado pela mudança de sua coloração de púrpura para amarelo), com ou sem produção de gás. Se os resultados são negativos, retornar os frascos à incubadora por mais 24 horas e efetuar após esse período a leitura final conforme especificado acima.

- Submeter as culturas com resultado presuntivo aos testes confirmativos para a determinação de coliformes totais e para a diferenciação de coliformes fecais.
- Com auxílio de uma alça de inoculação, devidamente flambada e resfriada, retirar um inóculo da cultura positiva em caldo P/A. Recomenda-se fazer uma leve agitação do frasco, para a dispersão das bactérias.
- Imediatamente após a abertura do frasco contendo as culturas positivas em caldo P/A, flambar a boca dele antes de colher os inóculos e repetir a operação antes de fechá-lo.
- Transferir esse inóculo para um tubo contendo caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2 % e incubar a $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$, durante 24–48 horas, e para um tubo contendo o meio E.C., e incubar a $44,5\text{ °C} \pm 0,2\text{ °C}$, em banho-maria com agitação, durante 24 horas.
- Após os períodos determinados de incubação, efetuar as leituras, considerando resultado positivo para coliformes totais se houve a produção de gás a partir da fermentação da lactose com verde brilhante e bile a 2 %. Coliformes fecais estão presentes se houve produção de gás no meio E.C.

Resultados

- Para coliformes totais, o resultado final é emitido com base nos resultados obtidos no caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2 %, sendo expresso como: presença (ou ausência) de coliformes totais/100 mL.
- Para coliformes fecais, o resultado final é baseado no meio E.C., sendo expresso como: presença (ou ausência) de coliformes fecais/100 mL.

b) Método cromogênico – Colilert

O sistema reagente do teste apresenta uma formulação específica que otimiza o desenvolvimento rápido dos microrganismos. Essa formulação é específica para o desenvolvimento de coliformes e da bactéria *Escherichia coli* em água doce e tratada (HAHNE; WITTROCK, 1991).

Os microrganismos têm afinidade por determinados nutrientes correspondentes a seu metabolismo e utilizam esses nutrientes como fonte de carbono. Os nutrientes indicadores específicos de Colilert são:

- ONPG: orto-nitrofenol- β -galactopiranosíde.

- MUG: 4-metil-umbeliferil- β -d-glucurônico.

As bactérias coliformes possuem a enzima β -galactosidase e a utilizam à medida que se reproduzem no Colilert para metabolizar o ONPG, alterando sua cor de incolor para amarelo.

As bactérias *E. coli* possuem a enzima β -glucuronidase, que metaboliza o MUG, quando presente no Colilert, originando fluorescência.

Já que a maioria dos microrganismos não-coliformes não conta com essas enzimas, eles não podem se reproduzir e interferir.

O Colilert utiliza tecnologia de substrato definido (Defined Substrate Technology – DST) e detecta um único coliforme, ou *E. coli*, viável por amostra.

Nota: O kit foi idealizado para realizar a contagem simultânea de coliformes totais e fecais em amostras de água e alimentos.

A metodologia utilizada é a técnica de tubos múltiplos para determinar a colimetria – número mais provável (NPM) – da água e de outros produtos.

A identificação dos coliformes totais é baseada na hidrólise de um substrato cromógeno (o X-Gal), uma vez que mais de 98 % das cepas de coliformes totais possuem a enzima galactosidase, e esta degrada aquele substrato. A adição de uma substância indutora do operon *lac* amplifica a síntese da enzima galactosidase e intensifica sua atividade. Isso resulta num aumento significativo da sensibilidade do teste. Já os coliformes fecais são identificados pela hidrólise de um substrato fluorogênico – o metil-umbeliferil-galactosídeo (MUG) – e pela prova do indol. O crescimento de bactérias Gram positivas é inibido no caldo FLM.

Procedimentos

- Identificar a amostra a ser analisada.
- Adicionar o reagente do flaconete ao frasco contendo 100 mL de amostra, fechar e agitar para uma mistura completa.
- Despejar todo o conteúdo do frasco na cartela.
- Colocar a cartela na seladora, para lacrar.
- Transferir a cartela para a incubadora a 35 °C e deixar durante 24 horas.

Resultados

Para a interpretação dos resultados:

- Cavidades incolores: resultado negativo.
- Cavidades amarelas: coliformes totais.
- Cavidades amarelas/fluorescentes: *E. coli*.
- Consulte a tabela do NMP para a quantificação.

c) Método de tubos múltiplos

Como o grupo dos coliformes totais inclui gêneros que não são de origem exclusivamente fecal, isso limita sua aplicação como indicador específico de contaminação fecal. O reconhecimento desse fato levou ao desenvolvimento de métodos de enumeração de um subgrupo de coliformes denominados coliformes fecais (coliformes termotolerantes), os quais são diferenciados dos coliformes totais por sua capacidade de fermentar a lactose em temperatura elevada (44,5 °C).

A determinação do número mais provável (NMP) de coliformes em uma amostra é feita pela aplicação da técnica de tubos múltiplos. Essa técnica baseia-se no princípio de que as bactérias presentes em uma amostra podem ser separadas por agitação, resultando em uma suspensão de células bacterianas, uniformemente distribuídas na amostra. Consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado em uma série de tubos. Por sucessivas diluições da amostra, são obtidos inóculos cuja sementeira fornece resultados negativos em pelo menos um tubo da série em que foram inoculados, e a combinação de resultados positivos e negativos permite a obtenção de uma estimativa da densidade das bactérias pesquisadas pela aplicação de cálculos de probabilidade. Para análises de águas, utiliza-se preferencialmente o fator 10 de diluição, sendo inoculados múltiplos e submúltiplos de 1 mL da amostra, com séries de 5 tubos para cada volume a ser inoculado.

Procedimento

Para a realização do teste, proceder da seguinte maneira:

- Identificar a amostra a ser analisada e definir os volumes dela a ser inoculados, de acordo com a procedência.

- Proceder à identificação dos tubos e anotar neles o número da amostra, o volume a ser inoculado e a data.
- Homogeneizar a amostra no mínimo 25 vezes, suavemente.
- Diluir a amostra até 10⁻³ de acordo com a metodologia para realização da diluição em série, identificando os frascos de diluição com as respectivas diluições.
- Homogeneizar o frasco contendo a diluição 10⁻¹ e, com nova pipeta, transferir 1 mL para cada um dos tubos de caldo lactosado (série de 5 tubos).
- Repetir a operação para as demais diluições, completando o total de 15 tubos, sendo 5 para cada diluição (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³).
- Após a inoculação de todos os volumes da amostra, incubar a 35 °C ± 0,5 °C, durante 24 horas.
- Decorrido esse período de incubação, efetuar a 1ª leitura, considerando como resultado positivo, em resposta à acidificação do meio, se houve produção de gás. Se os resultados são negativos, retornar os frascos à incubadora por mais 24 horas e efetuar após 48 horas a leitura final. Registrar os resultados, anotando o número de tubos com resultado positivo para cada volume inoculado.
- Submeter as culturas com resultado presuntivo aos testes confirmativos para a determinação de coliformes totais e para a diferenciação de coliformes fecais: com uma alça de inoculação devidamente flambada, e/ou palito de madeira previamente esterilizado, retirar um inóculo da cultura positiva em caldo CL e transferir esse inóculo para um tubo contendo caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2 % a 35 °C ± 0,5 °C, durante 24–48 horas e para o meio E.C. a 44,5 °C ± 0,2 °C, em banho-maria com agitação, durante 24 horas.
- Após os períodos determinados de incubação, fazer as leituras, considerando resultado positivo para coliformes totais a produção de gás pela fermentação da lactose no meio caldo lactosado com verde brilhante e bile a 2 %: coliformes fecais estão presentes se houve produção de gás no meio E.C. Decorridas as primeiras 24 horas de incubação, observar os tubos. Aqueles que continuarem incolores (cor original) devem ser

reincubados por mais 24 horas. Caso tenha ocorrido mudança da coloração inicial (incolor) para uma tonalidade verde-azulada, os tubos com tal característica devem ser “anotados” como positivo para coliformes totais. Nesse caso, o tubo deve ser observado sob luz ultravioleta (UV) com comprimento de onda de 365 nm. Se a amostra fluorescer, isso indica positividade para coliformes fecais. Diante dessa situação, adiciona-se 5 gotas do reativo de Kovacs* ao tubo fluorescente. O aparecimento de uma cor vermelho-rósea dentro de 3 minutos indica que a bactéria é produtora de indol, confirmando assim a positividade para coliformes fecais. Caso o tubo não apresente fluorescência, ele deve ser incubado por mais 24 horas, e a leitura deve ser repetida. Caso o tubo, após 48 h de incubação, ficar apenas verde e não apresentar fluorescência, conclui-se que há presença apenas de coliformes totais, ou seja, ausência de fecais. Se o tubo não adquirir cor verde, ou seja, apresentar-se límpido ou mesmo turvo, então não há indício da presença de coliformes: tanto totais quanto fecais. Nestes casos, a leitura da fluorescência e revelação do indol no referido tubo é desnecessária e não deve ser realizada. Depois da leitura dos cinco tubos de cada amostra, o técnico deve obter na Tabela 3 o número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais presentes na amostra (vide exemplo) (MANAFI et al., 1991; MANAFI; KNEIFEL, 1991).

Nota: a alcalinização da amostra com algumas gotas de NaOH 1N intensifica a fluorescência de amostras duvidosas, especialmente em casos onde já houve incubação por 48 horas e a dúvida permanece. Caso a amostra necessite ser incubada por mais tempo ou se ela for utilizada para outros fins (repique, etc.), separar uma pequena porção (5 mL, por exemplo) da amostra e proceder à alcalinização. A leitura da fluorescência e, se necessário, a adição de NaOH devem ser feitas antes da revelação da prova do indol. Essa ordem deve ser seguida porque o reativo de Kovacs é ácido e diminui a intensidade da fluorescência, o que prejudica a leitura.

Tabela 3. Estimativa do número mais provável (NMP) nas amostras.

Nº de tubos positivos	NMP/100 mL	Limite de confiança
00	<1,1	0–3,0
01	1,1	0,05–5,9
02	2,2	0,26–8,1
03	3,6	0,69–10,6
04	5,1	1,3–13,4
05	≥ 6,9	2,1–16,8

Fonte: Apha (1998) (tabela 922J.III).

- Para a realização do ensaio completo, identificar as placas de ágar EAM. Flambar e resfriar uma alça de inoculação de platina. Agitar e inclinar o tubo contendo CLVBB com resultado positivo e colher um inóculo da cultura.
- Depositar o inóculo em um ponto nas bordas da placa de ágar EAM. Girar a placa e iniciar o espalhamento na superfície do primeiro quadrante. Girar a placa e continuar o espalhamento no segundo quadrante. Proceder dessa maneira até completar a semeadura em toda a superfície do ágar.
- Fechar e incubar a placa em posição invertida durante 24 horas a $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$.
- Após o período determinado de incubação, fazer a leitura considerando como culturas típicas de coliformes as colônias nucleadas, com ou sem brilho metálico. Considerar como colônias atípicas as róseas, mucóides e sem núcleo e todos os outros tipos.
- Selecionar duas culturas típicas e, com uma alça de inoculação, transferir uma para um tubo de caldo lactosado e a outra para um tubo com ágar nutriente inclinado.
- Incubar o caldo lactosado durante 24–48 horas e o ágar nutriente durante 24 horas, ambos a $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$.
- A cultura em ágar nutriente será utilizada na próxima aula para a coloração de Gram. Não será realizado o teste para oxidase.

Resultados

- A densidade de coliformes é expressa como número mais provável (NMP) de coliformes por 100 mL, como pode ser observado no exemplo, em solução aquosa:
 - Se na amostra em análise apenas 1 dos 5 tubos ficou verde-azulado e nenhum tubo apresentou fluorescência após 48 horas de incubação, observa-se, de acordo com a tabela, o seguinte resultado:
Coliformes totais – NMP: 1,1/100 mL; coliformes fecais – NMP: < 1,1/100 mL (negativo).
 - Se 5 tubos ficaram verde-azulados e 3 deles apresentaram fluorescência, temos:
Coliformes totais – NMP: $\geq 6,9/100$ mL; coliformes fecais – NMP: 3,6/100 mL.

Nota: caso exista a necessidade de se determinar o NMP com maior precisão, recomenda-se o uso de outras baterias de diluição além daquela de 10 mL (1 mL e 0,1 mL, por exemplo). Para a interpretação dos resultados com essas baterias, vide tabela específica na literatura (APHA, 1998. Tabela 9221.1V).

A presença tanto de coliformes totais quanto de fecais pode ser ocasional e deve ser confirmada por meio de repetição da análise. Resultados isolados podem causar interpretações dúbias, sendo recomendada a análise conjunta de pelo menos 5 resultados de amostras coletadas em diferentes dias do mesmo mês. As exigências legais variam com o tipo de material e com a finalidade a que se destina. Sugere-se sempre procurar a Anvisa na dúvida. Por exemplo, para a interpretação de NMP em água, ver Portaria Anvisa 1469, reeditada em 2001.

- De acordo com a finalidade da água, existe um limite para os valores de coliformes totais e fecais presentes na amostra. Esses valores podem ser determinados pela consulta às portarias do MS (36/90), Conama (20/86) e Funasa (1469/01).
- Os resultados são expressos como NMP/100 mL de coliformes totais e NMP/100 mL de coliformes fecais.

Limitações

A produção da enzima galactosidase é praticamente exclusividade dos coliformes totais. Entretanto, algumas raras cepas de bactérias não pertencentes a esse grupo podem produzir tal enzima. Quanto ao MUG, de 96 % a 98 % das cepas de *E. coli* dão resultados positivos. Já a produção de indol é detectada em cerca de 98 % a 99 % das cepas desta espécie. Havendo necessidade de confirmação definitiva do resultado, isso pode ser feito isolando novamente a bactéria presente no caldo em uma placa de agar MacConkey ou Teague e proceder à identificação bioquímica (kit de identificação para enterobactérias*). (HAHN; WITTROCK, 1991).

Informações adicionais

Informações sobre análises para fins de saúde pública podem ser obtidas, por correspondência, na Anvisa:

Gerência-geral de Laboratório de Saúde Pública
Agência Nacional de Vigilância Sanitária
SEPN 515, Bloco B, Ed. Omega
Asa Norte
CEP 70770-502 Brasília, DF

5. Interpretação de resultados de amostras de fertilizantes orgânicos

5.1 Qualidade dos compostos

Para ser utilizado de maneira segura e eficiente, o composto de resíduos sólidos orgânicos deve ser corretamente estabilizado. Isso significa que a matéria orgânica original deve ser convertida em uma forma que seja mais resistente à degradação, que contenha quantidades mínimas de componentes fitotóxicos e contaminantes e que esteja livre de patógenos de plantas e animais (LOPES-REAL; FOSTER, 1985; ZUCCONI; BERTOLDI, 1990; LOPEZ-REAL, 1994; SENESI, 2004; BRASIL, 2005, 2006, CONAMA, 2006).

Para ser considerado de qualidade, o composto deve satisfazer tanto às agências regulatórias quanto às especificações do mercado. Dessa forma, a qualidade vista por diferentes atores tem também diferentes significados, mas se equivalem no que diz respeito à umidade, à concentração de NPK e matéria orgânica e ao conteúdo de inertes. No caso da umidade, o composto não pode estar encharcado (com valores acima de 60 %), pois o agricultor estaria comprando mais água do que adubo. A concentração de NPK e de matéria orgânica é extremamente importante para o valor do composto, e uma forma de avaliar sua qualidade e calcular seu valor de mercado é compará-lo aos adubos químicos (KIEHL, 1998; ABREU JUNIOR et al., 2005b; BRASIL, 2005, 2006).

O conteúdo de inertes proporciona a sensação de um composto de má qualidade, pois a presença de materiais contaminantes, como cacos de vidro, de louça e de plástico, provoca impacto visual e constitui um obstáculo para a venda. Outros itens de qualidades do composto também são examinados pelo agricultor, como a inexistência de odor, a coloração preta intensa e o tamanho das partículas (partículas finas ou médias são mais atrativas).

Quando bem processado, o composto maduro não tem odor, possui coloração característica, é fácil de manusear, de estocar e de transportar. O composto cru não possui essas qualidades e pode se tornar tóxico para as plantas (Tabela 4).

De acordo com a Tabela 4, o composto cru não possui as características necessárias do composto de boa qualidade, demonstrando que, apesar de ter havido um início de decomposição, a matéria orgânica não pode ser considerada bioestabilizada (SILVA et al., 2002). Entre as

conseqüências de utilizar compostos imaturos no cultivo de plantas estão a interferência na germinação das sementes e a possível toxicidade causada pelo excesso de amônia (KIEHL, 1998).

Tabela 4. Diferenças entre os compostos maduro e cru.

Composto maduro	Composto cru
Nitrogênio como íon nitrato	Nitrogênio como íon amônio
Enxofre como íon sulfato	Enxofre ainda em partes como íon sulfídrico
Baixa demanda de oxigênio	Alta demanda de oxigênio
Sem perigo de putrefação	Perigo de putrefação
Mineralização de cerca de 50 %	Altas concentrações de substâncias orgânicas não mineralizadas
Alta capacidade de retenção de água	Baixa capacidade de retenção de água

Fonte: Silva et al. (2002).

Programas de certificação de qualidade de compostos de países europeus, como Alemanha, Áustria e Dinamarca, exigem temperaturas de compostagem específicas para garantir a “higiene” e a redução de patógenos.

A Alemanha especifica que as temperaturas nas pilhas de compostos alcancem mais de 55 °C por duas semanas ou mais de 65 °C por uma semana, em sistemas abertos, e mais de 60 °C por uma semana, em sistemas fechados. Na Áustria, todos os compostos são obrigados a atingir mais de 60 °C por 6 dias, ou mais de 65 °C por 3 dias, ao passo que na Dinamarca o padrão exigido para os compostos é de mais de 55 °C por 2 semanas (BRINTON, 2001). De acordo com Pereira Neto (2004), uma efetiva eliminação de patógenos só ocorre a partir de temperaturas de 60 °C e tempo de exposição superior a 20 dias.

A eliminação de patógenos do material de origem destinado à produção de compostos é motivo de preocupação entre os estudiosos da área, principalmente em relação à compostagem de lodos de esgoto, pois esse tipo de resíduo pode propagar microorganismos potencialmente patogênicos, como bactérias (*Salmonella*, *Listeria*), vírus (*Hepatitis*) e parasitas animais (*Ascaris*, *Protozoa*) (LOPEZ-REAL, 1994). Resíduos provenientes de fazendas também devem ser tratados com muita cautela pelo fato de muitas bactérias e viroses zoonóticas serem transmissíveis entre homens e animais. Esse problema foi exacerbado no Reino Unido, em grande parte pela prática de alimentação de animais com materiais

fecais, carcaças e vísceras. Atualmente, as agências regulatórias da Europa exigem que a *Salmonella* não seja detectada em 25 g de composto, ao passo que a presença de *E. coli* não pode exceder a 1.000 NMP/g (BRINTON, 2001).

A reciclagem de resíduos agrícolas e de horticultura também comporta riscos potenciais às plantas em decorrência de microorganismos patogênicos. Algumas estratégias para resíduos, tanto humanos quanto animais, mostraram que os critérios da EPA de 55 °C por 72 horas são suficientes para eliminar os patógenos de plantas. Outros resíduos de fermentação e de indústrias de processamento de alimentos ou resíduos orgânicos naturais, como algas, cascas de árvores e materiais florestais, são geralmente livres de patógenos e podem ser usados com temperaturas adequadas apenas para maximizar a decomposição e retirar a umidade (LOPEZ-REAL, 1990, 1994).

Outros parâmetros importantes quando se considera a qualidade de compostos são os componentes tóxicos e contaminantes, cuja presença está relacionada com a qualidade da matéria-prima usada para a produção de um dado composto. Todavia, a qualidade do composto produzido de resíduos sólidos urbanos também é determinada pelos métodos de processamento do resíduo. Assim, tanto as características do resíduo quanto as do processamento devem ser levadas em conta quando há o intuito de produzir um composto com determinadas especificações. Portanto, as características do lixo orgânico a ser compostado devem ser manipuladas no ponto de coleta – com a coleta seletiva de resíduos biodegradáveis – e as propriedades do composto final, durante o processo subsequente de compostagem (LOPEZ-REAL, 1994; ABREU JUNIOR et al., 2005a, 2005b).

Merillot (1996) afirma que a avaliação da compostagem de diferentes tipos de resíduos mostra que as características do composto são essencialmente herdadas dos resíduos base, mesmo sofrendo influência de parâmetros como conteúdo e qualidade dos componentes orgânicos, umidade, tamanho das partículas, concentração de N, pH, potencial patogênico e condutividade.

Segundo Rodrigues (1996) e Basso (2004), resíduos urbanos altamente contaminados produzirão um composto com elevados teores de metais pesados, o que não ocorre com resíduos de coleta seletiva. Embora muitos autores afirmem que os resíduos urbanos, com origem na coleta seletiva, produzam um composto com menor carga de metais pesados do que os resíduos misturados, Epstein et al. (1992) argumentam que não existe evidência científica de que quaisquer dos dois representem risco para a

saúde humana ou para o meio ambiente, principalmente em razão da baixa fitodisponibilidade e mobilidade desses metais em condições de pH acima de 5. Essa visão é fortemente compartilhada por Woodbury (1990).

Para a maioria dos pesquisadores, entretanto, a coleta e o processamento de resíduos de forma seletiva – orgânicos, metais, vidro, papéis, alumínio, tecidos, madeira – constituem uma das melhores maneiras (se não a única) de obter um produto final de boa qualidade, que pode ser utilizado sem maiores preocupações e que possui potencial atrativo para os agricultores (KRAUSS et al., 1986; RICHARD; WOODBURY, 1992; LOPEZ-REAL 1994; ABREU JUNIOR et al., 2005b).

É importante ressaltar que, por causa de inúmeras dificuldades de ordem econômica e de logística, a coleta seletiva dos materiais ainda é pouco adotada no Brasil. Como existem apenas algumas usinas no País e como são muitas as dificuldades para o adequado gerenciamento dos resíduos sólidos urbanos produzidos pela população brasileira, é necessário pesquisar a real situação dessas usinas para uma interpretação diferenciada de nossa realidade e tentar discutir a possibilidade de produção de compostos de boa qualidade originados de matéria-prima misturada.

Além disso, não se pode deixar de lado a problemática dos metais pesados contidos nos compostos, pois sua presença em grande quantidade em todos os padrões potenciais de qualidade foi, muitas vezes, o foco de maior atenção.

A forte presença de metais pesados em muitos resíduos industriais e urbanos transforma-os em fonte de grande preocupação e objeto de estudo. Nos resíduos sólidos domiciliares, por exemplo, esses elementos potencialmente tóxicos podem ser facilmente encontrados nos materiais industrializados coloridos, como borrachas, tecidos, cerâmicas, vidros de cor, couros, papéis de propaganda e revistas, em produtos de limpeza e sanitários, em resíduos industriais, como lâmpadas, baterias e outros materiais eletrônicos (KIEHL, 1998).

Na agricultura, a preocupação com o emprego de certos compostos contendo elementos químicos considerados tóxicos advém do fato de as plantas absorvê-los juntamente com os elementos essenciais à nutrição delas. Ao se deslocarem das raízes para as partes comestíveis do vegetal, esses componentes tomam-se danosos tanto para as próprias plantas quanto para o homem e os animais que delas se alimentam, isto é, esses componentes tóxicos acabam se incorporando à cadeia alimentar (KIEHL, 1998; SILVA et al., 2002; ABREU JUNIOR et al., 2005a, 2005b).

De acordo com Rodrigues (1996) e Basso (2004), mesmo que não se utilizem compostos com alto conteúdo de metais pesados na produção de alimentos, o composto com uma carga elevada de contaminantes representa um risco potencial de contaminação do solo e da água, sendo recomendável o monitoramento desses fatores ambientais em áreas sujeitas à aplicação continuada desse tipo de composto. Metais pesados são elementos químicos que ocorrem na solução do solo, em associação com moléculas orgânicas, nas seguintes formas: como complexos organometálicos, como colóides em suspensão nas formas líquidas solúveis ou sólidas, como precipitado e em várias outras formas e cujas densidades são maiores que $5,0 \text{ g cm}^{-3}$. Somente quando a concentração desses elementos químicos existentes no solo se eleva até um ponto considerado crítico é que ela pode se tornar danosa para plantas, homens e animais. Além disso, a disponibilidade desses metais tem relação inversa com o pH: aumenta em condições de solo ácido, com valores de pH menores, e diminui com a elevação dos valores de pH (WOODBURY 1990; EPSTEIN et al., 1992; RICHARD; WOODBURY, 1992; KIEHL 1998).

De acordo com Kiehl (1998), a terminologia “metais pesados” é usada erroneamente no meio científico, já que outros metais, como metais leves (densidade menor que $5,0 \text{ g cm}^{-3}$), e elementos químicos não metálicos são igualmente tóxicos quando empregados em doses excessivas. De acordo com o autor, o termo correto seria “elementos potencialmente tóxicos”. A Tabela 5 traz uma relação de metais com densidades inferiores e superiores a $5,0 \text{ g cm}^{-3}$ que são igualmente tóxicos quando utilizados em doses elevadas. Também é importante notar que muitos dos elementos potencialmente perigosos são nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, como cobre, ferro, manganês e zinco, e só se tomam realmente danosos às plantas e ao homem quando absorvidos em grandes quantidades. O termo “metal pesado” é criticado também pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) (DUFFUS, 2002).

A Tabela 6 apresenta os valores limites para metais pesados em compostos produzidos em alguns países europeus, nos Estados Unidos e no Brasil. Há mais de uma década, os países europeus, por meio de certificados de qualidade, impõem limites para certos metais pesados encontrados nos compostos orgânicos. Os valores permitidos de alguns metais são tão baixos que podem eventualmente acarretar um impedimento na compostagem de alguns tipos de resíduos. Em alguns países, como a Alemanha, a legislação é tão severa que a utilização

Tabela 5. Principais elementos potencialmente tóxicos encontrados em resíduos.

Elementos químicos potencialmente tóxicos					
Densidade inferior a 5,0 g cm ⁻³			Densidade superior a 5,0 g cm ⁻³		
Elemento	Densidade	Símbolo	Elemento	Densidade	Símbolo
Alumínio	2,70	Al	Cádmio	8,65	Cd
Bário	3,50	Ba	Crômio	7,19	Cr
Berílio	1,86	Be	Cobre	8,96	Cu
Césio	1,99	Cs	Chumbo	11,40	Pb
Sódio	0,97	Na	Ferro	7,86	Fe
Titânio	4,51	Ti	Manganês	7,43	Mn
			Mercúrio	13,60	Hg
			Níquel	8,90	Ni
			Zinco	7,14	Zn

Tabela 6. Limites de metais pesados no composto orgânico, para uso agrícola, estabelecidos pela legislação brasileira e de outros países.

País	Elemento								
	As	Cd	Cr	Co	Cu	Pb	Hg	Ni	Zn
	mg kg ⁻¹ , base seca								
Brasil	20	3	200	-	-	150	1	70	-
Áustria	-	4	150	-	400	500	4	100	1.000
Bélgica ⁽¹⁾	-	5	150	10	100	600	5	50	1.000
Bélgica ⁽²⁾	-	5	200	20	500	1.000	5	100	1.500
Suíça	-	3	150	25	150	150	3	50	500
Dinamarca	25	1,2	-	-	-	120	1,2	45	-
França	-	8	-	-	-	800	8	200	-
Alemanha	-	1,5	100	-	100	150	1,0	50	400
Itália	10	1,5	100	-	300	140	1,5	50	500
Holanda ⁽¹⁾	25	2	200	-	300	200	2	50	900
Holanda ⁽²⁾	15	1	70	-	90	120	1,7	20	280
Espanha	-	40	750	-	1.750	1.200	25	400	4.000
EUA	-	10	1.000	-	500	500	5	100	1.000

⁽¹⁾ Uso na agricultura, qualidade normal.

⁽²⁾ Uso na agricultura, qualidade superior.

Fonte: Brinton (2001), Silva et al. (2004), Abreu Junior et al. (2005a) e Brasil (2006).

agrícola de composto de lixo é controlada de acordo com os níveis de metais para cada tipo de solo, exigindo permissão para cada caso (BRINTON, 2001). No caso do Brasil, a legislação para o uso agrícola de fertilizantes orgânicos ainda é muito recente (BRASIL, 2005, 2006); não obstante, os valores estabelecidos como limites máximos admitidos de contaminantes em fertilizantes orgânicos brasileiros são compatíveis com aqueles das rígidas normas dos países europeus.

A Holanda é o país mais severo quanto aos limites impostos para metais pesados no composto orgânico, ao passo que a Espanha possui valores mais altos para todos os elementos, inclusive quando comparados com os limites definidos pelos Estados Unidos, exceto para cromo. A Dinamarca, embora não apresente valores para todos os metais, impõe limites bem baixos para cádmio, chumbo, mercúrio e níquel, aproximando-se dos valores impostos pela Holanda. Quanto ao Brasil, a Instrução Normativa nº 27, de 05/06/2006, da Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006), impõe limites para metais pesados que estão na média dos limites apresentados pelos países europeus, excluindo-se a Espanha, com teores bem baixos para chumbo e mercúrio (Tabela 6).

Apesar de haver contradições entre pesquisadores quanto ao uso de compostos contendo, dentro de certos limites, mais ou menos metais pesados, em geral as culturas agrícolas respondem positivamente à aplicação de composto. Eventuais melhorias no desempenho de plantas cultivadas, decorrentes da aplicação de composto, são conseqüências de mudanças nas características físicas do solo, as quais criam condições mais apropriadas ao crescimento vegetal, além da liberação de macro e micronutrientes (GALLARDO-LARA; NOGALES, 1987; SANCHES et al., 1989; TESTER, 1990).

Recomendações de aplicação de composto orgânico variam com o tipo de composto usado, com o solo, com a cultura e com as condições ambientais prevalentes na área onde os estudos são efetuados. Em geral, as taxas de aplicação variam de 25 t ha⁻¹ a 100 t ha⁻¹, mas doses mais elevadas não são incomuns. Tester (1990) sugere que uma adição anual de 100 t ha⁻¹ de composto é suficiente para produzir colheitas elevadas e induzir mudanças substanciais nas características físicas do solo. As limitações nesse caso, segundo o autor, podem ser de cunho econômico-financeiro.

Além da concentração de metais, outros parâmetros são considerados na certificação de qualidade internacional. Alguns países europeus aprovam mais de um grau de qualidade. A Áustria possui 3 classes e a Alemanha, 2 classes de qualidade (a *Bundesgütegemeinschaft Quality Seal* e a *Blue Angel Seal*). Ambas são autorizadas pelo German Institute for Quality Certification and Declaration (RAL), mas a maioria das usinas que solicitam a certificação na Alemanha segue a primeira, não a Blue Angel Seal, principalmente por causa do marketing mais agressivo do programa, que inclui diversas reuniões e boletins informativos para as usinas. Bélgica, Itália e Holanda também apresentam dois sistemas de certificação para os compostos (BRINTON, 2001).

No Brasil, até 2005, antes da IN SDA nº 23, de 31/08/05 (BRASIL, 2005), e da IN SDA nº 27, de 05/06/06 (BRASIL, 2006a), havia uma certa

dificuldade em se garantir a qualidade dos compostos orgânicos produzidos não só pela falta de aplicação da legislação até então existente, mas, principalmente, pela ausência de parâmetros de controle de qualidade.

De acordo com a IN SDA nº 23 (BRASIL, 2005), os fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos e organominerais passaram a ser classificados de acordo com as matérias-primas utilizadas na sua produção em:

Classe “A” – Fertilizante orgânico que, em sua produção, utiliza matéria-prima de origem vegetal, animal ou de processamentos da agroindústria, onde não sejam utilizados no processo o sódio (Na^+), metais pesados, elementos ou compostos orgânicos sintéticos potencialmente tóxicos.

Classe “B” – Fertilizante orgânico que, em sua produção, utiliza matéria-prima oriunda de processamento da atividade industrial ou da agroindústria, onde o sódio (Na^+), metais pesados, elementos ou compostos orgânicos sintéticos potencialmente tóxicos são utilizados no processo.

Classe “C” – Fertilizante orgânico que, em sua produção, utiliza qualquer quantidade de matéria-prima oriunda de lixo domiciliar, resultando em produto de utilização segura na agricultura.

Classe “D” – Fertilizante orgânico que, em sua produção, utiliza qualquer quantidade de matéria-prima oriunda do tratamento de despejos sanitários, resultando em produto de utilização segura na agricultura.

As especificações estabelecidas para os compostos produzidos no Brasil, bem como a classificação granulométrica, são apresentadas nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Anteriormente à instrução normativa SDA nº 23 (BRASIL, 2005), Kiehl (1985) apresentou faixas de valores de umidade, de pH, de relação C/N e de outras propriedades na tentativa de estabelecer faixas de qualidade para os compostos de lixo produzidos no Brasil (Tabela 9).

De acordo com a IN SDA nº 23 (BRASIL, 2005) e a IN SDA nº 27 (BRASIL, 2006), os estabelecimentos que produzem fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes orgânicos devem manter controle periódico dos contaminantes contidos nas matérias-primas e no produto final. Os valores para metais estão expostos na Tabela 6, sendo os seguintes valores permitidos para contaminantes biológicos: 1.000 NMP g^{-1} para coliformes fecais, 1 ovo em 4 gramas ST para ovos viáveis de helmintos, 3 NMP g^{-1} para *Salmonella sp* e 100 NMP g^{-1} para

Tabela 7. Especificações dos fertilizantes orgânicos misto e composto no Brasil, conforme instrução normativa nº 23, do Ministério da Agricultura.

Propriedade	Valor a ser garantido				
	Misto/composto				Vermicomposto Classes A, B, C, D
	Classe A	Classe B	Classe C	Classe D	
Umidade % (máx.)	50			70	50
N total % (mín.)	1				
Carbono org. % (mín.)	15				10
CTC (cmol _c kg ⁻¹)	Conforme declarado				
pH (mín.)	6,0		6,5	6,0	6,0
Relação C/N (máx.)	18				12
Relação CTC/C (mín.)	20			30	20
Soma NPK, NP, NK, PK %	Conforme declarado				

Valores expressos em base seca, exceto a umidade.

Fonte: Brasil (2005).

Tabela 8. Classificação de fertilizantes orgânicos e biofertilizantes constituídos de partículas sólidas ou frações sólidas.

Natureza física	Especificação granulométrica		
	Peneira	Passante	Retido
Granulado	4 mm (ABNT nº 5)	95 % mínimo	5 % máximo
	1,0 mm (ABNT nº 18)	5 % máximo	95 % mínimo
Pó	2,0 mm (ABNT nº 10)	100 %	0 %
	0,84 mm (ABNT nº 20)	70 % mínimo	30 % máximo
	0,3 mm (ABNT nº 50)	50 % mínimo	50 % máximo
Farelado	3,36 mm (ABNT nº 6)	95 % mínimo	5 % máximo
	0,5 mm (ABNT nº 35)	25 % máximo	75 % mínimo
Farelado Grosso	4,8 mm (ABNT nº 4)	100 %	0 %
	1,0 mm (ABNT nº 18)	20 % máximo	80 % mínimo

Fonte: Brasil (2005).

E. coli. Os compostos orgânicos classe "D", ou seja, aqueles tendo lodo de esgoto como matéria-prima, têm uso proibido no cultivo de hortaliças, em pastagens e em capineiras, e devem ser aplicados no campo exclusivamente com equipamentos mecanizados, sendo obrigatório o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) durante o manuseio e a aplicação.

Considerando os benefícios sócio-ambientais da compostagem do lixo urbano, com melhorias na produtividade agrícola, e a necessidade ética de não se contaminar o solo e as plantas, Rodrigues (2004) sugere a adoção de um programa de monitoramento constante da qualidade

dos resíduos e dos compostos produzidos nas usinas de compostagem de lixo orgânico, a fim de garantir a qualidade do produto e a saúde dos consumidores e do ambiente agrícola.

Tabela 9. Classificação do composto de lixo urbano quanto às suas características químicas.

Característica	Classificação ou faixa				
	Ótimo	Bom	Baixo	Indesejável	Excessivo
Umidade %	< 25	25–35			> 35
pH	> 7,5	6,0–7,5		< 6,0	
Matéria orgânica total %	> 60	50–60	< 50		
Mat. org. resistente %	< 10	10–15		> 15	
Cinzas %	< 20	20–40		> 40	
N total %	> 3,5	1,8–3,5		< 1,8	
Relação C/N	8–12/1	12–18/1		> 18/1	
	Alto	Médio	Baixo		
P%	> 0,6	0,2–0,6	< 0,2		
K%	> 1,2	0,4–1,2	< 0,4		
Ca%	> 2,8	1,4–2,8	< 1,4		
Mg%	> 1,2	0,6–1,2	< 0,6		
S%	> 0,5	0,2–0,5	< 0,2		

Fonte: Kiehl (1985).

As dificuldades em se garantir qualidade adequada dos compostos produzidos no Brasil levaram um grupo de pesquisadores, ligados à Embrapa, à USP, à UNICAMP e ao IAC, a desenvolver um sistema (programa computacional) de análise de compostos que, além de servir para normatização do produto, indica as substâncias que estão presentes em cada amostra e fornece indicações sobre seu uso na agricultura. O programa computacional, de nome Sistema Inteligente para Recomendação do Uso de Composto de Lixo Urbano na Agricultura (Sirclua), é utilizado no âmbito das universidades e está sendo adaptado para ser usado diretamente nas usinas de compostagem. De acordo com Vasconcelos (2003), o Sirclua proporcionará maior controle da qualidade do material produzido nas usinas de compostagem e auxiliará os produtores rurais no adequado uso agrícola desses produtos, com segurança ambiental.

O Sirclua permite equilibrar a capacidade do composto em fornecer nutrientes para o solo, a fim de atender às necessidades de nutrição das plantas e garantir a qualidade dos produtos (SILVA et al., 2002). A qualidade do composto é analisada de acordo com os padrões mínimos aceitáveis para o cultivo de cada produto agrícola, e já existem recomendações para dez culturas: arroz, cana-de-açúcar, cereais, milho, mandioca, aveia e outras (VASCONCELOS, 2003). A tendência é não aplicar o composto em hortaliças.

5.2 Lodo de esgoto: particularidades

O lodo de esgoto de origem urbana que, quando devidamente condicionado biológica e fisicamente, atender à Norma P 4.230, da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 1999), e à Resolução nº 375 do Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA (CONAMA, 2006), que legislam sobre o uso de lodo de esgoto na agricultura do Estado de São Paulo e Brasil, respectivamente, poderá ser usado na agricultura. Segundo essas normas, para que um lodo de esgoto possa ser utilizado em área agrícola, há a necessidade de um plano de aplicação aprovado pelo órgão de controle ambiental (Cetesb, Conama, etc) e devem ser observadas exigências com relação à localização da área, composição do lodo com relação aos metais pesados, poder de neutralização e taxa de mineralização.

Por possuir valores distintos em metais pesados (Tabela 10) e em indicadores patogênicos tolerados para o uso agrícola, o lodo de esgoto diferencia-se, na aplicação à agricultura, do composto de lixo. Há o efeito da acumulatividade dos metais adicionados ao solo pelo lodo aplicado sucessivamente ao longo dos anos na área agrícola, e isso deve ser considerado. Dessa forma, no cálculo da taxa de aplicação de lodo de esgoto deverão ser considerados os seguintes parâmetros: teor de N-disponível, teor de metais no lodo, acúmulo de metais no solo, poder de neutralização e presença de outros nutrientes (CETESB, 1999; CONAMA, 2006).

Outro aspecto é que o lodo pode ter sido caleado (recebeu cal) no processo de tratamento do esgoto, o que leva à necessidade de se avaliar o poder de neutralização do resíduo, para, então, se calcular a taxa de aplicação do lodo de esgoto no solo. Nessa avaliação, se estabelece a quantidade de lodo que pode ser adicionada ao solo sem exceder o valor de pH de 6,5, que é o limite máximo permissível (CETESB, 1999).

Além disso, o processo de tratamento de águas servidas pode gerar a acumulação de compostos orgânicos recalcitrantes de difícil degradação e/ou tóxicos. Pode-se avaliar a presença desses compostos por meio de teste de degradabilidade da matéria orgânica que, no caso do lodo de esgoto, deve ter meia-vida inferior ou igual à 90 dias em temperaturas de até 25 °C, na taxa de aplicação a ser adotada.

A dose de lodo é calculada, na maioria das vezes, com base no teor de nitrogênio mineralizável presente nele, que está correlacionado ao teor potencial de nitrato passível de lixiviação. A Taxa de aplicação em função do N-disponível (TAN), que se baseia na curva de incubação de lodo/solo para avaliar a mineralização do N presente nos resíduos, é

Tabela 10. Limites de metais pesados no lodo de esgoto, para uso agrícola, estabelecidos pela legislação brasileira e de outros países.

País	Elemento								
	As	Cd	Cr	Co	Cu	Pb	Hg	Ni	Zn
	mg kg ⁻¹ , base seca								
Brasil ⁽⁵⁾	75	85	-	-	4.300	840	57	420	7.500
Brasil ⁽⁶⁾	-	20	1.000	-	1.000	750	16	300	2.500
Brasil ⁽⁷⁾	20	8	500	-	-	300	2,5	175	-
Brasil ⁽⁸⁾	41	39	1.000	-	1.500	300	17	420	2.800
Austrália ⁽¹⁾	30	32	600	-	2.000	500	19	300	3.500
Austrália ⁽²⁾	20	20	500	-	2.000	420	15	270	2.500
Austrália ⁽³⁾	20	5	250	-	375	150	4	125	700
Austrália ⁽⁴⁾	20	3	100	-	100	150	1	60	200
EUA ⁽⁵⁾	75	85	3.000	-	4.300	840	57	420	7.500
EUA ⁽⁶⁾	41	39	1.200	-	1.500	300	17	420	2.800

⁽¹⁾ Uso na agricultura com restrição, ou área florestal, ou área degradada, qualidade inferior.

⁽²⁾ Uso na agricultura, qualidade normal.

⁽³⁾ Uso na horticultura, qualidade superior.

⁽⁴⁾ Uso na horticultura, qualidade excepcional.

Fonte: ⁽⁵⁾ Cetesb (1999), Brinto (2001), ⁽⁶⁾ IAP (2004), Abreu Junior et al. (2005a), ⁽⁷⁾ Brasil (2006), lodo de esgoto como condicionador de solo, e ⁽⁸⁾ Conama (2006).

a mais utilizada. A dose de lodo de esgoto a ser aplicada não deve exceder o valor da TAN calculada pela seguinte equação (CETESB, 1999):

$$TAN = \frac{N\text{-recomendado (kg ha}^{-1}\text{)}}{N\text{-disponível (kg t}^{-1}\text{)}}$$

A estimativa do N-disponível no lodo deve considerar se a aplicação será superficial ou subsuperficial.

Para aplicação superficial, o N-disponível é calculado pela seguinte equação:

$$N\text{-disponível} = TM \times (Nt - Na) + 0,5 \times Na + Nn + Ni$$

em que:

N-disponível = teor de nitrogênio disponível no lodo, em kg t⁻¹.

TM = taxa de mineralização do nitrogênio orgânico, em porcentagem.

Nt = teor de nitrogênio total determinado pelo método de Kjeldahl, em mg kg⁻¹.

Na = teor de N-amoniaco, em mg kg⁻¹.

Nn = teor de N-nitrato, em mg kg⁻¹.

Ni = teor de N-nitrito, em mg kg⁻¹.

Para aplicação subsuperficial, o N-disponível é calculado pela equação

$$\text{N-disponível} = \text{TM} \times (\text{Nt} - \text{Na}) + \text{Na} + \text{Nn} + \text{Ni}$$

O Departamento de Ambiente, Saúde e Recursos Naturais da Carolina do Norte, Estados Unidos, adota as taxas de mineralização apresentadas na Tabela 11.

Existem situações, entretanto, em que há restrições à utilização do lodo de esgoto na agricultura (Tabela 12).

Em relação ao lodo de esgoto, ocorre uma preocupação adicional em função dos metais pesados previsto na legislação brasileira, que é a acumulatividade dos metais nas áreas que recebem lodo. A Tabela 13 mostra os limites de metais pesados que podem ser incorporados ao solo anualmente, assim como o limite máximo que pode ser acumulado em determinada área agrícola.

Tabela 11. Taxa de mineralização de lodo adotada pela Carolina do Norte (USA) no primeiro ano após aplicação no solo.

Tipo de lodo	Taxa de mineralização (%)
Não estabilizado, primário e secundário	40
Digerido aerobiamente	30
Digerido anaerobiamente	20
Compostado	10

Tabela 12. Situações de restrições para uso de lodo de esgoto na agricultura.

Cultura/atividade	Restrições
Cultura de alimentos cujas partes comestíveis entrem em contato com o lodo de esgoto	Por um período de 14 meses após a aplicação, não cultivar alimentos cuja parte consumida entre em contato com o lodo (melões, pepinos, hortaliças, etc)
Lodo	Por um período de 9 meses após a aplicação, se o for incorporado depois de 4 meses da aplicação, ou por um período de 38 meses após a aplicação, se o lodo for incorporado antes de 4 meses da aplicação, não cultivar alimentos cuja parte consumida fique abaixo da superfície do solo (batata, cenoura, rabanete, etc.)
Rabanete	Antes de 30 dias após a aplicação, não se deve colher culturas de alimentos, de forragem e de fibras

Continua...

Tabela 12. Continuação.

Pastagem de animais	Não aplicar em pastagens
Contato público	Durante um ano após a aplicação do lodo, o acesso à área com possibilidade de receber grande afluência de público deverá ser restrito Durante 30 dias após a aplicação do lodo, o acesso à área com possibilidade de receber pouca afluência de público deverá ser restrito

Fonte: Cetesb (1999), Brasil (2005, 2006) e Conama (2006).

Tabela 13. Limites permitidos, para adição anual (CETESB, 1999) e carga acumulada teórica (CONAMA, 2006), de metais pesados no solo para o uso agrícola de lodo de esgoto.

Metal	Limite (kg ha ⁻¹) Anual	Carga acumulada teórica
As	2,0	30
Cd	1,9	4
Cr	–	154
Cu	75	137
Pb	15	41
Hg	0,85	1,2
Mo	–	13
Ni	21	74
Se	5,0	13
Zn	140	445

6. Determinação do efeito da adição de resíduos contendo matéria orgânica ao solo

Além da caracterização da composição química e da presença de patógenos, a aplicação de lodos biológicos em solos agrícolas, especialmente os de origem industrial, requer uma avaliação da dinâmica do material depois de sua adição.

Essa avaliação auxilia na definição da dose adequada de lodo a ser aplicada no campo, de modo a proporcionar os benefícios agrônômicos pretendidos e a evitar problemas potenciais, como alterações indesejáveis no pH do solo e lixiviação de nitrato para águas subterrâneas.

Nesse sentido, são realizados ensaios de incubação em laboratório que simulam as condições de aplicação do resíduo. Idealmente, deve-se empregar o solo do local de interesse, no qual são determinadas a biodegradação de carbono e a mineralização do nitrogênio orgânico do resíduo adicionado. Considerando que os processos envolvidos na decomposição podem causar alterações significativas no pH do solo, este também é investigado.

Embora esse tipo de avaliação tenha sido consagrado na caracterização de lodos biológicos, seu emprego estendeu-se a outros resíduos e subprodutos orgânicos com potencial de uso agrícola. No caso do lodo de esgoto, é imprescindível conhecer a dinâmica de mineralização do N, nutriente de principal interesse nesse resíduo e um dos parâmetros utilizados para a determinação da dose do resíduo a ser aplicada no campo.

Neste texto, são apresentados três ensaios relacionados ao uso agrícola de resíduos orgânicos, cujos métodos descritos são, por vezes, adaptações do que se tem disponível na literatura e refletem a experiência do Laboratório de Qualidade do Solo do IAC.

6.1 Coleta, preparo e caracterização do solo para as incubações

O solo a ser utilizado nos ensaios deve ser proveniente da área (gleba homogênea em termos de solo, topografia e uso da terra) candidata a receber o resíduo ou composto orgânico. A quantidade necessária depende dos ensaios, da massa empregada neles e do número de repetições.

A superfície do solo deve estar livre de folhas e outros detritos, e deve-se coletar amostras da camada superficial (de 0 a 20 cm) num total de 12 a 15 pontos do terreno. As amostras individuais devem ser misturadas num recipiente (balde ou saco de plástico limpos) para se obter uma amostra composta representativa da área, na quantidade desejada. Não se deve retirar amostras de locais inadequados, como aqueles próximos a formigueiros, a residências, a estradas, nem de solo encharcado. O solo deve ser espalhado em bancada e secado ao ar, à temperatura ambiente, até atingir consistência friável. Em seguida, ele deve ser peneirado em malha de 2 mm e armazenado em sacos de plástico a 4 °C, podendo ser mantido dessa forma por até um mês.

O solo deve ser caracterizado em termos químicos (fertilidade) e granulométricos, de acordo com os métodos propostos por Camargo et al. (1996) e Rajj et al. (1987, 2001), respectivamente. Além disso, dois outros parâmetros são também necessários, a capacidade de retenção de água no solo (CRAS) e a curva de neutralização, cujos procedimentos para determinação são descritos a seguir.

6.2 Capacidade de retenção de água do solo (CRAS)

Equipamentos

- Provetas graduadas de 100 mL e de 200 mL.
- Vidro de relógio.
- Funil de vidro.
- Papel de filtro para filtração lenta, faixa azul.
- Anel suporte com haste ou tripé.
- Balança semi-analítica.

Procedimento

- Montar o funil de vidro no anel suporte com haste ou tripé e colocar o papel de filtro, levemente umedecido com água, dentro do funil. Completar a montagem colocando a proveta de 100 mL embaixo do funil para coletar a água percolada no solo.
- Pesar 100 g da amostra de solo, previamente secada a 60 °C, até peso constante, e transferir quantitativamente para o funil de vidro.
- Medir 200 mL de água destilada com o auxílio da proveta e adicioná-los lentamente ao solo contido no funil.
- Deixar filtrar por alguns minutos e cobrir o funil com um vidro de relógio para evitar perda de água por evaporação a partir da superfície da amostra.
- Esperar cessar a drenagem e anotar o volume de água percolado. Realizar em triplicata.
- A capacidade de retenção de água do solo, por 100 g de solo seco, será dada pela diferença entre a água adicionada e a

percolada. Calcular a média das três determinações e utilizar esse valor para os ensaios listados a seguir.

6.3 Curva de neutralização

Em solos tropicais, a obtenção de uma curva de neutralização antes dos estudos com o resíduo orgânico é de especial interesse quando se pretende avaliar o potencial desse material como condicionador de solo, uma vez que o pH é um dos principais fatores que regula a CTC do solo e a disponibilidade de nutrientes para as plantas.

Equipamentos

- Balança analítica.
- Frascos para obtenção de extratos usados na determinação de pH do solos, com tampa.
- Material para a determinação do pH em amostras de solos.

Reagentes e soluções

- Carbonato de cálcio p.a.
- Água deionizada.
- Reagentes e soluções empregados para a determinação do pH em amostras de solos.

Procedimento

- Pesar 10 g (com precisão de 0,1 g) da amostra de solo diretamente nos frascos empregados para a obtenção dos extratos utilizados na determinação do pH do solo.
- Acrescentar as seguintes massas de carbonato de cálcio (CaCO_3), com precisão de miligramas: 0 (controle), 50 mg, 100 mg, 150 mg, 300 mg e 600 mg. Fazer em triplicata. Misturar bem o carbonato ao solo.
- Umedecer o solo com água deionizada de forma a manter o solo das incubações próximo a 70 % da CRAS determinada anteriormente.

- Pesar os copos, anotar as massas, cobrir para evitar o ressecamento das amostras e deixar em repouso por 10 dias.
- Checar a necessidade de reposição da água perdida por evaporação depois de 3 e de 6 dias de incubação e fazer a reposição caso necessário (retornar ao peso inicial da incubação).
- Preparar os extratos (relação solo:solução de 1:2,5) e medir o pH em CaCl_2 0,01 mol L⁻¹, conforme método descrito em Quaggio e Rajj (2001).

Com os resultados de pH (ordenada) em função da dose de CaCO_3 (abscissa), deve-se ajustar um modelo matemático (preferência por polinomial de primeiro ou segundo grau), para obter a equação da curva. O chamado valor de neutralização (VN), que corresponde à menor massa de carbonato de cálcio, em miligramas, suficiente para elevar o pH de 10 g de solo a aproximadamente 7, pode ser encontrado por meio da equação da curva, bastando isolar a dose e atribuir valor 7,0 ao pH.

6.4 Preparo e caracterização da amostra de resíduo orgânico

A amostragem de resíduos orgânicos deve obedecer ao item 2.1 deste capítulo ou à norma NBR 10007 (ABNT, 1987) e sua caracterização segue a NBR 10004 (ABNT, 2004), no caso de lodo ou outros resíduos. A caracterização química das amostras também deve ser realizada de acordo com a norma adequada ao tipo da amostra a ser utilizada, seja esta constituída por lodo, composto de lixo urbano ou fertilizante orgânico. Para os ensaios aqui discutidos, é obrigatório determinar: umidade (a 60 °C); carbono orgânico, sólidos voláteis; nitrogênio total e nitrogênio inorgânico (nitrítico e amoniacal) e fósforo (total). É aconselhável determinar também a presença e a quantidade de metais pesados na amostra.

6.5 Definição das doses de resíduo para os ensaios

A dose de resíduo a ser adicionada aos tratamentos depende da natureza e das características do resíduo.

Fatores como pH, teores de metais pesados, teor de sais solúveis, entre outros, podem ser utilizados para o cálculo das doses do resíduo. Para fins agrícolas, no campo, o nitrogênio tem sido o fator mais limitante para definir a dose do resíduo: o valor da fração de mineralização do

nitrogênio é imprescindível para o cálculo. Dessa forma, considerando a necessidade de nitrogênio da cultura, a dose do resíduo será tanto menor quanto maior for a fração de mineralização do nitrogênio nele contido, ou seja, a menor dose do resíduo é dada em função de 100 % da fração de mineralização do nitrogênio. E a maior dose do resíduo? A maior dose, teoricamente, é dada pelo mínimo de mineralização do nitrogênio. Porém, se a mineralização do nitrogênio for muito baixa, isso é indicativo de que muito provavelmente esse resíduo não seja fonte potencial do referido nutriente para as plantas e, por esse motivo, outro fator deve ser mais limitante à dose.

Nesse contexto, o Laboratório de Qualidade do Solo do IAC definiu o cálculo da dose do resíduo orgânico em função do N, admitindo como menor dose (dose 1) aquela em que todo o N do resíduo é pressuposto como disponível (FMN = 100 %) durante o ciclo da cultura. As outras duas doses a serem empregadas nos ensaios são obtidas admitindo valores da FMN iguais a 50 % e 25 %, o que resulta nas doses 2 e 3, respectivamente.

Para resíduos líquidos, é comum que a definição das doses pela FMN implique adição excessiva de água, pelo menos na maior dose, cujo volume adicionado seria superior ao necessário para o correspondente a 70 % da CRAS. Nesse caso, prefere-se calcular as doses para o ensaio por meio da CRAS, isto é, a maior dose (dose 3) do resíduo líquido será aquela capaz de adicionar a quantidade necessária de água para elevar a umidade a 70 % da CRAS. As doses 2 e 1 serão iguais a $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da dose máxima, respectivamente.

Considerar que 1 ha possui na camada de 0 a 20 cm de profundidade uma quantidade de terra igual a 2.000 Mg e calcular a massa de resíduo equivalente para a massa de solo usada nos frascos de incubação (100 g ou 500 g).

Além das doses do resíduo, sempre incubar um tratamento controle, que é somente solo e, no caso da degradação do carbono, há também um tratamento com glicose em dose correspondente à quantidade de carbono aplicada via dose 2 do resíduo. Esse tratamento com glicose, fonte de carbono facilmente degradado pela microbiota edáfica, serve para comparação com o resíduo, mas principalmente como padrão interno do laboratório, uma vez que entre 1 e 5 dias de incubação cerca de 50 % do total de carbono adicionado já deve ter sido perdido como CO₂ e entre 15 e 30 dias todo o carbono adicionado já deve ter sido consumido. Caso a degradação da glicose não se processe do modo

esperado, a montagem do ensaio deve ser checada (volume de água adicionada, quantidade de glicose, etc.) e devem ser verificados a origem, o histórico/uso e as características do solo utilizado.

6.6 Ensaio 1: Biodegradação de carbono

A biodegradação de carbono é monitorada por meio de medidas da respiração do solo, e considerações interessantes a respeito podem ser encontradas em Anderson (1982). O método empregado no IAC é uma adaptação de métodos disponíveis na literatura (CESTEB, 1990; ABNT, 1999) e consiste em trabalhar com massas maiores de solo e resíduo de forma a minimizar as variações decorrentes da não homogeneidade dos materiais estudados. Também optou-se por realizar determinações condutimétricas para quantificar o CO_2 liberado nas incubações (RODELLA; ALCARDE, 1994; RODELLA; SABOYA, 1999), em vez do método volumétrico (titulometria) normalmente sugerido. Tal procedimento tem se mostrado bastante reprodutível e de fácil execução.

No ensaio, são empregadas 3 doses de resíduo, 1 controle (somente solo) e 1 tratamento com glicose (solo + glicose). Os tratamentos são realizados em triplicata, totalizando 15 frascos de incubação.

As incubações são realizadas a uma temperatura de $28\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ (ABNT, 1999).

Equipamentos

- Frascos de vidro com diâmetro aproximado de 12 cm, capacidade de 2 L e com tampa que permita fechamento hermético para evitar contato com a atmosfera exterior.
- Frascos de plástico com capacidade de 50 mL e com tampa.
- Barrilete em material inerte, com respiro, para armazenagem de solução de hidróxido de sódio.
- Condutímetro e cela para medidas de condutividade elétrica.
- Incubadora capaz de manter e corrigir a temperatura para o intervalo de $28\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.
- Tubo de vidro para montagem de respiro com cal sodada ou ascarita, para manutenção da solução de hidróxido de sódio durante a armazenagem.

- Telas de nylon ou de outro material sintético, lavadas com água destilada, colocadas, uma em cada tratamento, sobre a superfície do solo no interior dos recipientes de 2 L, para evitar contato direto (perda de terra) do frasco contendo soda com o material incubado.
- Dispensador para 40 mL.
- Pipetas volumétricas, balões volumétricos, béqueres e provetas para preparo das soluções.

Reagentes e soluções

- Água deionizada, isenta de CO_2 .
- Ferver a água destilada durante 30 minutos, transferir para frasco com filtro de ascarita e deixar esfriar até atingir a temperatura ambiente. Usar imediatamente.
- Cal sodada ou ascarita, para preservação da solução de NaOH.
- Fenolftaleína para uso como indicador – Dissolver 0,2 g de fenolftaleína em 60 mL de etanol p.a. e completar o volume com água destilada até 100 mL.
- Biftalato de potássio p.a. ($\text{C}_6\text{H}_4\text{COOK}\cdot\text{COOH}$) – Secar em estufa a $110\text{ }^\circ\text{C}$ – $120\text{ }^\circ\text{C}$, por 30 minutos. Resfriar em dessecador.
- Soluções de NaOH a $0,5\text{ mol L}^{-1}$ ou $0,25\text{ mol L}^{-1}$ – Usar água isenta de CO_2 . Para preparar a solução $0,5\text{ mol L}^{-1}$, pesar 20 g do hidróxido de sódio em béquer e transferir para balão volumétrico de 1 L. Adicionar um pouco de água e dissolver o sal, completar com água e homogeneizar. Para preparar a solução de NaOH $0,25\text{ mol L}^{-1}$, pesar 10 g do hidróxido de sódio para 1 L de água e proceder como acima. Padronização: pesar aproximadamente 0,5 g do biftalato de potássio, previamente secado em estufa, em balança analítica, e anotar a massa até a última casa. Transferir o biftalato pesado quantitativamente para um erlenmeyer de 250 mL e dissolver o sal após adicionar cerca de 25 mL de água destilada, agitando bem. Adicionar 2 gotas de fenolftaleína e titular com a solução de NaOH $0,5\text{ mol L}^{-1}$ até a viragem de rosa para incolor. Anotar o volume titulado. Realizar em triplicata. Para a solução de NaOH $0,25\text{ mol L}^{-1}$, usar cerca de 0,25 g de biftalato e proceder de forma semelhante.

Atenção: as soluções padronizadas devem ser armazenadas de maneira a garantir que não haja reação com CO_2 atmosférico. Recomenda-se o uso de barriletes de material inerte com respiros nos quais a comunicação com o ar atmosférico deve ser restringida pelo uso de um tubo de vidro contendo ascarita ou cal sodada.

- Solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ ou $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ – A concentração da solução de Na_2CO_3 empregada deve ser exatamente a metade da concentração da solução de NaOH padronizada e empregada no ensaio. Secar o sal, de qualidade p.a., em estufa a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ – $120 \text{ }^\circ\text{C}$, por 30 minutos. Resfriar em dessecador. A massa molar do carbonato de sódio é de 105,99 g.
- Glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) para um dos tratamentos, que será adicionada ao solo em dose de carbono correspondente à dose 2 do resíduo.
- Solução padrão de KCl , com condutividade $12,89 \text{ dS m}^{-1}$ ou 1418 dS m^{-1} , a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, para a calibração do condutivímetro – A solução padrão empregada deve ser a de condutividade mais próxima à das amostras analisadas.

Procedimento

Montagem do experimento

Atenção: é necessário conhecer previamente a capacidade de retenção de água do solo (CRAS) e a umidade do resíduo.

Quando a massa de solo é excessivamente elevada em relação à massa de resíduo a ser adicionada, a mistura homogênea entre esses componentes pode ser difícil e se refletir em variação entre as replicatas. Para contornar esse problema, pode-se pesar todo o solo necessário para as 3 replicatas de cada tratamento, mais um adicional de 20 %, no mesmo recipiente, misturar a quantidade do resíduo correspondente à dose considerada (lembrar dos 20 % adicionais), homogeneizar e, somente então, separar as quantidades correspondentes a cada um dos 3 frascos da incubação.

- Pesar 500 g de solo em cada um dos 15 frascos que serão empregados no ensaio de biodegradação de carbono.
- Adicionar as doses de resíduo (umidade original) ou a glicose à massa de solo contida nos frascos de incubação, de acordo com os cálculos, e homogeneizar adequadamente. Identificar o frasco

quanto à dose empregada e replicatas. Não esquecer do tratamento controle (somente solo), também em triplicata.

- Adicionar água deionizada aos frascos de incubação para elevar a umidade do solo até 70 % CRAS. Não esquecer que o volume de água a ser adicionado corresponderá à diferença entre o volume necessário para atingir 70 % CRAS e a quantidade já adicionada via resíduo.
- Identificar os frascos de plástico com capacidade de 50 mL com a dose e a replicata dos respectivos frascos de incubação. Dispensar 40 mL da solução padronizada de NaOH 0,5 mol L⁻¹ (ou 0,25 mol L⁻¹) e imediatamente transferi-los para os frascos de incubação, tampando-os em seguida. Colocar o frasco com a solução sobre um pedaço de tela de nylon para evitar a perda de solo do experimento por ocasião da troca dos frascos empregados para a captura do CO₂ produzido.
- Na incubadora a 28 °C ± 2 °C, colocar os frascos de incubação com a solução de NaOH para reação com o CO₂.
- Fazer a troca da solução de NaOH diariamente, substituindo o frasco de plástico do dia anterior por um novo, com 40 mL da solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ (ou 0,25 mol L⁻¹) padronizada.
- Ao retirar o frasco com a solução de NaOH saturada com CO₂, tampá-lo imediatamente. Após substituir todos os frascos com a solução, aguardar alguns minutos, até que sua temperatura seja a temperatura ambiente, para então realizar as determinações de CO₂ produzido.
- Calibrar o condutímetro com a solução de KCl, segundo as instruções do fabricante. Em seguida, determinar a condutividade de uma alíquota da solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ original, que está sendo empregada no ensaio, e da respectiva solução de Na₂CO₃. Anotar as leituras. Determinar a condutividade das soluções retiradas dos frascos de incubação, anotando todas as leituras.

Importante: a frequência de troca da solução de NaOH depende essencialmente da taxa de biodegradação observada, podendo ser necessárias até mais de uma troca por dia. Com o desenvolvimento do processo, a troca pode ser feita até a cada 3 dias, dependendo da condutividade observada. Se a condutividade elétrica média for muito

baixa, utilizar a solução de NaOH 0,25 mol L⁻¹. Geralmente, utiliza-se a solução 0,5 mol L⁻¹ de NaOH durante os primeiros 10 ou 15 dias de incubação, quando a liberação de CO₂ é mais intensa, passando posteriormente à solução 0,25 mol L⁻¹ de NaOH.

Atenção: quando trocar a solução 0,50 mol L⁻¹ de NaOH pela de 0,25 mol L⁻¹, não esquecer de substituir também o padrão de Na₂CO₃ de 0,25 mol L⁻¹ pelo de 0,125 mol L⁻¹.

- Término do ensaio – O término do ensaio pode ser definido com base na liberação desprezível de carbono na forma de CO₂ com o tempo de incubação, o que é facilmente diagnosticado pelo ajuste satisfatório dos dados de carbono degradado da equação de cinética química de primeira ordem (ver mais adiante). Isso normalmente não ocorre antes dos 60 dias para lodos biológicos. Caso todo o carbono adicionado tenha sido degradado em período mais curto, pode-se determinar o final do ensaio antes do previsto.

Cálculos

a) Determinação do CO₂ produzido

Nesse ensaio de biodegradação do carbono de resíduos orgânicos, a atividade microbiana se desenvolve em ambiente aeróbio e, portanto, há consumo de compostos orgânicos como fonte de carbono e energia, que são oxidados a CO₂, sendo o O₂ o receptor final de elétrons na cadeia respiratória, ou seja, a atividade microbiana edáfica produz CO₂. O CO₂ produzido é, então, capturado pela solução de NaOH, seguindo a estequiometria abaixo:



O método de determinação de CO₂ empregado baseia-se na redução da condutividade elétrica da solução de NaOH na medida em que o NaOH é consumido e íons carbonato são produzidos, sendo estes últimos de menor mobilidade em solução. Dessa forma, conhecendo as condutividades elétricas de uma solução padronizada de NaOH e da correspondente solução de Na₂CO₃ de concentração igual à metade da primeira (ver estequiometria da reação), pode-se determinar quanto de carbono na forma de CO₂ (C-CO₂) foi liberado e reagiu com a solução de NaOH original:

$$C\text{-CO}_2 \text{ (mg)} = 6V \times M \frac{C_1 - C_x}{C_1 - C_2}$$

em que:

V = volume (mL) da solução de NaOH empregada (40 mL).

M = concentração (mol L⁻¹) da solução de NaOH padronizada.

C_x = condutividade elétrica da solução NaOH proveniente do tratamento investigado.

C₁ = condutividade elétrica da solução padronizada de NaOH.

C₂ = condutividade da solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) com metade da concentração do NaOH padronizado.

6 = fator para conversão em massa, levando em conta a estequiometria da reação e a massa molecular do carbono (1 mol de C = 12 g).

b) Determinação da fração de biodegradação

Montar tabela com as leituras de condutividade elétrica da solução padronizada de NaOH, da solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) e das soluções provenientes dos tratamentos sob investigação. Organizar as leituras em função do tempo de incubação/avaliação e tratamentos, conforme exemplo da Tabela 14.

Calcular o CO₂ produzido por biodegradação do resíduo para cada solução em que a condutividade foi lida (Tabela 15).

Obter a média das replicatas de CO₂ produzido para cada tratamento do ensaio (Tabela 16).

Tabela 14. Valores de condutividade elétrica (dS m⁻¹) obtidos em ensaio de biodegradação de carbono em resíduo.

Identificação	Data	21/maio	22/maio	23/maio
	Dia	1	2	3
	Horário	8h30	8h30	8h30
	Vaso			
[NaOH] mol L ⁻¹	-	0,5142	0,5142	0,5372
[Na ₂ CO ₃] mol L ⁻¹	-	0,2571	0,2571	0,2686
Vol.NaOH (mL)	-	40,00	40,00	40,00
Padrão	-	1.390,0	1.406,0	1.408,0

Continua...

Tabela 14. Continuação.

Identificação	Data	21/maio	22/maio	23/maio
	Dia	1	2	3
	Horário	8h30	8h30	8h30
	Vaso			
Na ₂ CO ₃	-	26,6	28,2	29,3
NaOH	-	82,4	83,1	82,2
Controle 1	1	76,8	77,4	82,2
Controle 2	2	76,9	78,6	81,7
Controle 3	3	77,3	76,1	81,5
Dose 1	4	68,5	61,7	50,2
Dose 1	5	70,0	61,0	51,7
Dose 1	6	70,0	62,6	54,3
Dose 2	7	72,4	67,1	68,0
Dose 2	8	73,1	65,6	68,8
Dose 2	9	72,8	64,9	69,2
Dose 3	10	74,1	80,7	69,0
Dose 3	11	74,2	82,2	69,5
Dose 3	12	74,0	81,5	69,1
Glicose	13	53,0	40,5	35,2
Glicose	14	51,9	40,6	34,5
Glicose	15	51,8	40,9	33,9

Tabela 15. Carbono liberado na forma de CO₂ (mg vaso⁻¹) nos tratamentos.

Identificação	Data	21/maio	22/maio	23/maio
	Dia	1	2	3
	Horário	8h30	8h30	8h30
	Vaso			
Controle 1	1	12,0	11,4	2,2
Controle 2	2	11,8	8,7	3,4
Controle 3	3	10,9	14,3	3,8
Dose 1	4	30,4	47,1	78,8
Dose 1	5	27,1	48,7	75,2
Dose 1	6	27,1	45,1	69,0
Dose 2	7	21,8	34,8	36,2
Dose 2	8	20,2	38,3	34,3

Continua...

Tabela 15. Continuação.

Identificação	Data	21/maio	22/maio	23/maio
	Dia	1	2	3
	Horário	8h30	8h30	8h30
	Vaso			
Dose 2	9	20,9	39,8	33,3
Dose 3	10	18,0	32,8	33,8
Dose 3	11	17,8	30,1	32,6
Dose 3	12	18,2	28,9	33,6
Glicose	13	64,8	95,4	114,8
Glicose	14	67,3	95,2	116,5
Glicose	15	67,5	94,5	117,9

Tabela 16. Valores médios de carbono liberado na forma de CO₂ (mg/vaso) nos tratamentos.

Dia	1	2	3
Identificação	C-CO ₂ (mg vaso ⁻¹)		
Controle	11,5	11,5	3,1
Dose 1	17,7	23,4	74,4
Dose 2	22,8	36,7	34,6
Dose 3	28,2	47,0	33,3
Glicose	25,3	42,9	116,4

Obter em seguida as quantidades de carbono liberado na forma de CO₂ de acordo com o resíduo ou a glicose adicionada. Isso é feito subtraindo o controle de cada tratamento (Tabela 17).

Tabela 17. Quantidades de carbono liberado na forma de CO₂ de acordo com o resíduo ou a glicose adicionada.

Dia	1	2	3
Identificação	C-CO ₂ (mg vaso ⁻¹)		
Dose 1	6,1	11,9	71,3
Dose 2	11,2	25,3	31,5
Dose 3	16,6	35,5	30,2
Glicose	13,8	31,4	113,3

Calcular a quantidade de CO₂ acumulado para cada tempo de incubação (o CO₂ acumulado no último dia de incubação será a soma CO₂ produzido em todos os dias de incubação). O exemplo desse cálculo para os três primeiros dias de incubação é mostrado a seguir (Tabela 18).

Tabela 18. Valores acumulados médios de carbono liberado na forma de CO₂ (mg/vaso).

Dia Identificação	1	2	3
	C-CO ₂ (mg vaso ⁻¹)		
Dose 1	6,1	18,1	89,3
Dose 2	11,2	36,5	68,0
Dose 3	16,6	52,2	82,4
Glicose	13,8	45,2	158,5

Montar uma tabela para consolidação do balanço da dinâmica da biodegradação do carbono aplicado via resíduos no solo, com todas as informações disponíveis para o controle e tratamentos. Essa tabela deve conter as doses aplicadas em termos de massa de carbono por quilograma de solo, o carbono liberado na forma de CO₂ (C-CO₂), o C-CO₂ liberado em função da adição do resíduo e da glicose ao final do período de avaliação (Tabela 19). A fração ou taxa de biodegradação do carbono será a razão entre C adicionado e o C-CO₂ liberado ao final da incubação.

Tabela 19. Exemplo da tabela para balanço do ensaio para biodegradação de carbono.

Identificação	C-	C-CO ₂	C-CO ₂	Taxa de
	adicionado	acumulado em 70 dias	acumulado líquido em 70 dias	biodegradação
				(%)
				mg kg ⁻¹
Controle	-	634,2		
Dose 1	1.880,40	2.020,80	1.386,60	73,74
Dose 2	3.760,80	3.845,20	3.211,00	85,38
Dose 3	7.530,60	5.600,70	4.966,50	65,95
Glicose	3.760,80	4.400,00	3.765,80	100,13

c) Ajuste dos dados ao modelo de cinética química e obtenção da taxa de biodegradação do carbono.

Aos dados de C-CO₂ produzido durante a biodegradação, expressos como acumulado (C-degradado), em função do tempo de incubação

(dias), pode-se ajustar um modelo de cinética química de primeira ordem para descrever o processo de degradação do carbono adicionado via resíduo ao solo:

$$\text{C-degradado} = C_0(1 - e^{-kt})$$

em que:

C-degradado = quantidade acumulada de carbono (mg kg^{-1}) liberada na forma de CO_2 (C- CO_2) no tempo t.

C_0 = carbono (mg kg^{-1}) potencialmente mineralizável no tempo total de incubação (70 dias, por exemplo).

K = constante de velocidade da reação de degradação do carbono orgânico do biossólido (dia^{-1}).

t = tempo de incubação, em dias.

Pode-se ainda obter a meia-vida de degradação do carbono no solo ($T_{1/2}$), ou seja, o tempo necessário para que 50 % do total de C liberado como CO_2 tenha sido degradado: $T_{1/2}$ (dias) = $\ln 2/k$.

Para obter os valores numéricos para esses parâmetros, bem como o coeficiente de correlação r (ajuste dos dados ao modelo), é recomendável o emprego de softwares adequados.

Na Tabela 20, são apresentados alguns parâmetros cinéticos obtidos por Andrade (2004), que trabalhou com alguns tipos de lodos de esgoto ou biossólidos adicionados a um solo argiloso e com tempo de avaliação de 70 dias.

Tabela 20. Parâmetros de cinética química e meia-vida de biodegradação ($T_{1/2}$) obtidos a partir do ajuste dos dados de C-degradado à equação de cinética química de primeira ordem.

Bios-sólido ⁽¹⁾	C- adicionado mg kg^{-1}	C-degradado = $C_0(1 - e^{-kt})$			Taxa de biodegradação (%)	
		C_0	k dia^{-1}	$T_{1/2}$ dias		
BAC	7.437,20	2.143,94	0,0211	33	0,988	28,83
BAP	12.462,00	2.369,45	0,0744	9	0,983	19,01
BAS	13.828,00	2.889,36	0,0702	10	0,994	20,89
BLP	12.592,00	799,26	0,0636	11	0,973	6,35
CL	8.698,00	588,30	0,0209	33	0,993	6,76

Continua...

Tabela 20. Continuação

Bios-sólido ⁽¹⁾	C- adicionado	C-degradado = $C_0(1 - e^{-kt})$				Taxa de biodegradação (%)
		C_0	k	$T^{1/2}$	r	
	mg kg ⁻¹		dia ⁻¹	dias		
BAP	3.115,50	779,02	0,0606	11	0,970	25,00
BAP	6.231,00	1.343,80	0,0706	10	0,970	21,57
BAP	24.924,00	4.646,07	0,0621	11	0,998	18,64

⁽¹⁾ BAC = biossólido anaeróbico condicionado com cal e cloreto férrico; BAP = biossólido anaeróbico condicionado com polímero sintético; BAS = biossólido anaeróbico seco termicamente; BLP = biossólido proveniente de lagoas de estabilização e condicionado com polímero sintético; e CL = composto de lodo de esgoto obtido por compostagem em pilhas aeradas após mistura do BLP com bagaço de cana e restos de poda urbana.

Fonte: Andrade (2004).

O uso dos resultados de carbono potencialmente mineralizável (C_0) para o cálculo da taxa de degradação do carbono do resíduo é uma ferramenta que permite corrigir certas distorções provenientes de erros experimentais de difícil controle. Nesse sentido, é recomendável tal procedimento quando há bom ajuste dos dados ao modelo de cinética, o que pode ser avaliado por meio do valor do coeficiente de correlação.

6.7 Ensaio 2: Determinação da fração de mineralização do nitrogênio (FMN) do resíduo

Para a determinação da mineralização de nitrogênio no material adicionado ao solo, podem ser empregados dois procedimentos: com e sem lixiviação periódica do nitrogênio mineralizado (CETESB, 1999).

O método sem lixiviação é operacionalmente mais simples e permite que o estudo de variação do pH do solo seja realizado simultaneamente nos mesmos frascos de incubação e, conseqüentemente, nas mesmas doses de resíduo.

Na rotina do Laboratório de Qualidade do Solo do Instituto Agrônômico, prefere-se a incubação sem lixiviação, que será descrita a partir deste ponto.

No método sem lixiviação, são incubadas 3 doses de resíduo e um tratamento controle (somente solo). O período total de incubação é de 11 semanas e, como os tratamentos são realizados em triplicata, são necessários 132 frascos de incubação para o ensaio. Nas datas

predeterminadas (0, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112 e 126 dias de incubação), são desmontados 2 frascos de incubação de cada tratamento, quando se determinam a umidade e o nitrogênio inorgânico, segundo métodos apresentados anteriormente neste capítulo. A temperatura de incubação é de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (CETESB, 1999).

Equipamentos

- Frascos de polietileno transparente, de 9 cm de diâmetro, com tampa (132 unidades). As tampas, também de polietileno, devem ter pequenos orifícios para permitir trocas gasosas.
 - Incubadora capaz de manter e corrigir a temperatura para o intervalo de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
 - Material empregado para a determinação de nitrogênio inorgânico em solos.
- Reações e Soluções
- Água deionizada
 - Reagentes e soluções empregadas na determinação de nitrogênio inorgânico em solos.

Procedimento

a) Montagem do experimento

Atenção

- É necessário conhecer previamente a capacidade de retenção de água do solo e a umidade do resíduo.
- Em geral, como a massa de resíduo é pequena, a amostra deve ser bem homogeneizada antes de ser adicionada ao solo e pode ser adicionada diretamente aos frascos de incubação.
- É importante a manutenção da umidade do solo durante a incubação.
- Pesar 100 g de terra em cada um dos 88 frascos de polietileno necessários para a realização do ensaio. Identificar, de forma visível, os frascos quanto à dose de resíduo a ser adicionado (não esquecer do tratamento controle sem a adição de resíduo), ao tempo de incubação e ao número da replicata, para evitar

engano na desmontagem dos tratamentos nos tempos previstos (0, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112 e 126 dias de incubação).

- Separar os frascos de acordo com a dose do resíduo a ser aplicada e adicionar a quantidade calculada para 100 g de solo. Homogeneizar.
- A umidade deve ser corrigida para um valor equivalente a 70 % da CRAS determinada em etapa anterior, o que é feito por meio da adição de água destilada ao frasco de incubação. O volume de água a ser adicionado corresponderá à diferença entre o necessário para alcançar 70 % da CRAS e o volume de água adicionado via dose do resíduo.
- Tampar os frascos, pesá-los e anotar as massas obtidas. Em seguida, colocá-los em incubadora com temperatura controlada de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e no escuro.
- Desmontar imediatamente os frascos de incubação (dois de cada tratamento) referentes ao tempo zero e determinar o nitrogênio inorgânico.
- A manutenção da umidade deve ser feita periodicamente por meio de pesagem dos frascos tampados e reposição da água perdida, de forma a obter o peso anotado no início da incubação. Isso deve ser feito semanalmente e pode-se usar um esquema de amostragem (30 % do total de frascos incubados) para verificação de tal necessidade.
- Nas datas pré-determinadas, fazer a desmontagem de dois frascos correspondentes a cada tratamento. Determinar o nitrogênio inorgânico (nitrogênio mineralizado, formas amoniacal + nítrica) em subamostra úmida do solo incubado (não secar). Em outra subamostra, determinar a umidade do solo para correção dos resultados de N inorgânico base seca. Detalhes da determinação do nitrogênio inorgânico em amostras de terra são apresentados em Cantarella e Trivelin (2001) e descritos por Raij (2001) no item 3.4.

b) Cálculos (CESTEB, 1999)

- Calcular as quantidades de nitrogênio inorgânico determinado nos diversos tempos de incubação, de acordo com o procedimento indicado no método apresentado neste capítulo.

Realizar a conversão dos valores de nitrogênio inorgânico determinado no solo úmido para base seca, empregando para isso os dados de umidade do solo no respectivo tempo de incubação.

- Obter os valores médios de nitrogênio inorgânico para cada dose e tempo de incubação, podendo expressá-los em mg kg^{-1} . Tabela os dados conforme exemplo apresentado a seguir (Tabela 21).

Tabela 21. Valores médios de nitrogênio inorgânico extraído do solo.

Trata- mento	Tempo de incubação (dias)										
	0	7	14	28	42	56	70	84	98	112	126
	mg kg^{-1}										
Controle	17,5	28,9	23,4	23,1	25,7	34,0	27,0	32,9	36,5	44,5	42,1
Dose 1	20,5	37,4	33,8	31,3	31,5	44,5	31,7	40,6	40,0	48,3	51,3
Dose 2	19,2	48,5	45,7	46,0	47,6	47,1	56,9	57,3	59,1	69,3	83,5
Dose 3	24,1	69,2	71,0	81,3	91,8	120,8	91,1	85,5	100,9	80,5	103,5

- Obter o nitrogênio efetivamente mineralizado (valor líquido) subtraindo de cada tratamento a quantidade de nitrogênio inorgânico existente no início da incubação (tempo zero). Obter, em seguida, o nitrogênio mineralizado decorrente da dose de resíduo adicionada, subtraindo o controle de cada tempo de incubação (Tabela 22).

Tabela 22. Nitrogênio mineralizado decorrente da dose de resíduo adicionada.

Trata- mento	Tempo de incubação (dias)										
	0	7	14	28	42	56	70	84	98	112	126
	mg kg^{-1}										
Dose 1	0,0	5,4	7,3	5,1	2,8	7,4	1,6	4,7	2,6	0,7	6,2
Dose 2	0,0	17,8	20,5	21,1	20,2	11,3	28,1	22,6	17,8	23,0	39,6
Dose 3	0,0	33,6	40,9	51,6	59,4	80,1	57,4	45,9	54,7	29,3	54,8

- Consolidar os resultados usando o modelo apresentado na Tabela 23, que apresenta a fração de mineralização do nitrogênio (FMN) para cada dose. A FMN é a razão entre o N adicionado e o N mineralizado após 126 dias de incubação:

$$\text{FMN (\%)} = \frac{\text{N total aplicado}}{\text{N mineralização decorrente do resíduo}}$$

Tabela 23. Cálculos para obtenção da fração de mineralização do nitrogênio em lodo de tratamento sanitário. Mesma amostra apresentada nas Tabelas 21 e 22.

Tratamento	N total aplicado	N inorgânico extraído inicialmente	N inorgânico extraído após 126 dias	N mineralizado após 126 dias	N mineralizado decorrente do resíduo	Fração de mineralização do N em 126 dias
						(%)
Testemunha	–	17,5	42,1	24,6	–	–
Dose 1	26,7	20,5	51,3	30,8	6,2	23,1
Dose 2	53,4	19,2	83,5	64,2	39,6	74,1
Dose 3	106,7	24,1	103,5	79,3	54,8	51,3

Comentários

Os dados das Tabelas 14 e 15 apresentam informações importantes sobre a dinâmica de mineralização do nitrogênio adicionado ao solo, podendo indicar a ocorrência de ciclos de imobilização/mineralização dele e, portanto, merece uma análise cuidadosa.

Os dados de nitrogênio mineralizado decorrente do resíduo, calculados para todos os tempos de avaliação (Tabela 15), podem ser ajustados a modelos de cinética química de primeira ordem, obtendo-se parâmetros auxiliares no entendimento da dinâmica do nutriente aplicado. Por meio desse ajuste obtém-se: o nitrogênio potencialmente mineralizável no total do período considerado (126 dias); a constante de velocidade da reação de mineralização; e a meia-vida de mineralização, esta última significando o tempo necessário para atingir 50 % do total de nitrogênio mineralizado no período de 126 dias.

Abaixo é apresentado um modelo de cinética química de primeira ordem que pode ser utilizado e que fornece os parâmetros cinéticos supracitados:

$$N_m = N_0(1 - e^{-kt})$$

em que:

N_m = N mineralizado (mg kg⁻¹) no tempo t.

N_0 = N potencialmente mineralizável (mg kg⁻¹) ao final do período total de avaliação.

k = constante de velocidade da reação de mineralização do N.

t = tempo de incubação, em dias.

A meia-vida ($T_{1/2}$) de mineralização é: $T_{1/2} = \ln 2/k$.

6.8 Ensaio 3: Elevação do valor do pH do solo

O método empregado no Laboratório de Qualidade do Solo do Instituto Agrônomo é uma adaptação daquele sugerido para lodo de esgoto (CETESB, 1999). A avaliação do efeito do resíduo ou composto orgânico no pH do solo é feita nas mesmas amostras do ensaio de mineralização do nitrogênio.

Deve-se conhecer o valor inicial do pH do solo e do resíduo, bem como a CRAS e a umidade do resíduo.

Equipamentos

- Os mesmos do ensaio de mineralização do nitrogênio.

Reagentes e soluções

- Água deionizada.
- Reagentes e soluções empregadas na determinação do pH em CaCl_2 , em solos.

Procedimento

- Os mesmos do ensaio de mineralização do nitrogênio.

Montagem do experimento

A montagem do experimento, bem como as épocas de avaliação, devem seguir as orientações do ensaio de mineralização do nitrogênio. Algumas considerações mais específicas são feitas a seguir:

- A determinação do pH deve ser feita em extrato aquoso de CaCl_2 , $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, com relação solo:solução de 1:2,5 (QUAGGIO; RAIJ, 2001).
- Os valores devem ser tabelados e/ou apresentados em gráficos com o tempo de incubação no eixo das abscissas e o pH no eixo das ordenadas.

- A curva de neutralização com CaCO_3 (equação ajustada) deve ser usada para encontrar o efeito do resíduo equivalente em CaCO_3 , conforme a dose e o tempo de interesse, o que auxilia em decisões práticas, como redução ou aumento da dose de calcário de acordo com o uso agrícola do resíduo orgânico.

7. Referências

- ABREU JUNIOR, C. H.; BOARETTO, A. E.; MURAOKA, T.; KIEHL, J. C. Uso agrícola de resíduos orgânicos: propriedades químicas do solo e produção vegetal. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v. 4. p. 391-470, 2005a.
- ABREU JUNIOR, C. H.; OLIVEIRA, F. C.; SILVA, F. C.; BERTON, R. S. Uso de resíduos orgânicos no pomar. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico: Fundag, 2005b. cap. 29, p. 871-896.
- ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties**. Madison, ASA, 1982.
- ANDRADE, C. A. **Fração orgânica de biossólidos e efeito no estoque de carbono e qualidade da matéria orgânica de um latossolo cultivado com eucalipto**. 2004. 121 p. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- ANDRADE, J. C.; ABREU, M. F. **Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais**. Campinas: IAC, 2006.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington, [1998].
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 11489**: fertilizantes orgânicos: determinação do carbono orgânico método de Walkey e Black. [Rio de Janeiro], 1989. 2 p.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10007**: amostragem de resíduos. São Paulo, 1987.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10004**: resíduos sólidos: classificação. Rio de Janeiro, 2004.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10357**: águas: determinação da demanda química de oxigênio (DQO). São Paulo, 1988.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 14283**: resíduos em solos: determinação da biodegradação pelo método respirométrico. Rio de Janeiro, 1999.

BASSO, A. C. **Caracterização química de compostos de lixo urbano de usinas de compostagem dos municípios de São Paulo e de São José dos Campos**. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA-USP, Piracicaba, 2004. 108 p.

BERTOLDI, M. de; VALLINI, G.; PERA, A. The biology of composting: a review. **Wastes Management & Research**, [S.l.], v. 1., p. 153-176, 1983.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Análise de corretivos, fertilizantes e inoculantes: métodos oficiais**. Brasília, DF, 1988. 104 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 23, de 31 de agosto de 2005. Aprova as definições e normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 set. 2005. Seção 1, p. 12.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 27, de 05 de junho de 2006. Dispõe sobre fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados, deverão atender aos limites estabelecidos nos Anexos I, II, III, IV e V desta Instrução Normativa no que se refere às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 jun. 2006. Seção 1, p. 15

BRINTON, W. F. An international look at compost standards. **Biocycle**, Emmaus, v. 42, n. 4, p. 74-76, 2001.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1986. 94 p. (Boletim técnico, 106).

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Determinação de nitrogênio inorgânico em solo pelo método da destilação a vapor. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. cap. 19, p. 270-276.

CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Comissão especial que vem estudando normas para aplicação de lodos de esgoto em solos agrícolas**. São Paulo, 1997.

CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas: critérios para projeto e operação**. São Paulo, 1999. 32 p. (Norma P4.230)

CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Solos**: determinação da biodegradação de resíduos: método respirométrico de Bartha (Norma L6.530). São Paulo, 1990.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 ago. 2006.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 20, de 18 de junho de 1986. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas no território nacional. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 jul., 1986.

D'ALMEIDA, M. L. O.; VILHENA, A. (Coord.). **Lixo municipal**: manual de gerenciamento integrado. 2. ed. São Paulo: IPT: Cempre, 2000. 310 p.

DUFFUS, J. H. "Heavy metals": a meaningless term? **Pure Applied Chemistry**, London, v. 74, n. 5, p. 793–807, 2002.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Standart for the use or disposal of sewage sludge. **Federal Register**, Washington, v. 35, n. 32, p. 9248-9415, Feb. 1993.

EPSTEIN, E.; CHANEY, R. L.; HENRY, C.; LOGAN, T. J. Trace elements in municipal solid waste compost. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 3, n. 3-4, p. 227-238, 1992.

GALLARDO-LARA, F.; NOGALES, R. Effect of the application to town refuse compost on the soil-plant system: a review. **Biological Wastes**, London, v. 19, p. 35-62, 1987.

HAHN, G.; WITTRÖCK, E. Comparison of chromogenic and fluorogenic substances for differentiation of Coliforms and *Escherichia coli* in soft cheeses. **Acta Microbiologica Hungarica**, Budapest, v. 38, n. 3/4, p. 265-271, 1991.

KAPETANIOS, E. G.; LOIZIDON, M.; MALLIOU, E. Heavy metals levels and their toxicity in compost from Athens household refuse. **Environmental Technology Letters**, London, v. 6, p. 799-802, 1988.

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

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem**: maturação e qualidade do composto. Piracicaba: Degaspari, 1998.

KRAUSS, P.; BLESSING, R.; KORHERR, U. Heavy metals in compost from municipal refuse: strategies to reduce their content to acceptable levels. In: BERTOLDI, M. (Ed.). **Compost**: production, quality and use. [S.l.: s.n.], 1986. p. 254-365.

- LOPEZ-REAL, J. M. Agroindustrial waste composting and its agricultural significance. **Proceedings of the Fertilizer Society**, London, v. 293, p. 1-26, 1990.
- LOPEZ-REAL, J. M. **Composting through the ages**. Paper presented at the Down to Earth Composting, at Dundee, 1994.
- LOPEZ-REAL, J. M.; FOSTER, M. Plant pathogen survival during composting of organic agricultural waste. In: GASSER, J. K. R. (Ed.). **Composting of agricultural and other wastes**. London: Elsevier Applied Science, 1985. p. 291-299.
- MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**: nutrição de plantas e fertilidade do solo. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 528 p.
- MANAFI, M.; KNEIFEL, F.; BASCONB, S. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 55, p. 335-348, 1991.
- MANAFI, M.; KNEIFEL, W. Fluorogenic and chromogenic substrates: a promising tool in microbiology. **Acta Microbiologica Hungarica**, Budapest, v. 38, n. 3/4, p. 293-304, 1991.
- MERILLOT, J. M. Perspectives and state of the art of composting in France. In: BERTOLDI, M. de; SEQUE, P.; LEMMERS, B.; PAPI, T. **Science of composting**. Enland: Chapman & Hall, 1996. Part 2, p. 684-690.
- PEREIRA NETO, J. T. Compostagem: fundamentos e métodos. In: SIMPÓSIO SOBRE COMPOSTAGEM, 2004, Botucatu. **Ciência e tecnologia**: anais. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2004.
- QUAGGIO, J. A.; RAIJ, B. van. Determinação do pH em cloreto de cálcio e da acidez total. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. cap. 10. p. 181-188.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285 p.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M. E.; LOPES, A. S.; BATAGLIA, O. C. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 170 p.
- RICHARD, T. L.; WOODBURY, P. S. The impact of separation on heavy metal contaminants in municipal solid waste compost. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 3, n. 3/4, p. 195-211, 1992.
- RODELLA, A. A.; ALCARDE, J. C. Avaliação de materiais orgânicos empregados como fertilizantes. **Science Agrícola**, Piracicaba, v. 51, n. 3, p. 556-562, 1994.
- RODELLA, A. A.; SABOYA, L. V. Calibration for conductimetric determination of carbon dioxide. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 2059-2060, 1999.

RODRIGUES, M. S. Resíduos orgânicos como matéria-prima para compostagem. In: SICOM – SIMPÓSIO SOBRE COMPOSTAGEM – CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2001, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2004. p. 1-27.

RODRIGUES, M. S. **Societal organic wastes for sustainable wheat (*Triticum aestivum*) production**. 1996. Tese(Doctor of Philosophy)-Universidade de Londres, 1996.

SANCHES, P. A.; PALM, C. A.; SZOTT, L. T.; CUEVAS, E.; LAL, R. Organic input management in tropical agroecosystems. In: COLEMAN, D. L. (Ed.). **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu: University of Hawaii Press, 1989. p. 125-152.

SAVAGE, G. M. The importance of waste characteristics and processing em the production of quality compost. In: BERTOLDI, M. de; SEQUI, P.; LEMMERS, B.; PAPI, T. **Science of composting**. England: Chapman & Hall, 1996. Part 2, p. 784-791.

SCHALCH, V.; REZENDE, M. O. O. O processo de compostagem do lixo e sua relação com a qualidade do adubo formado. **Bio**, São Paulo, v. 3, n. 4, p. 44-47, out./dez. 1991;

SENESI, N. Composted materials as organic fertilizers. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, 2004.

SILVA, F. C.; BERTON, R. S.; CHITOLINA, J. C.; BALLESTERO, S. D. **Recomendações técnicas para o uso agrícola do composto de lixo urbano no Estado de São Paulo**. Campinas: Embrapa Informática e Agropecuária, 2002. (Circular técnica 3).

TESTER, C. F. Organic amendment effects on physical and chemical properties of sand soil. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 54, p. 827-831, 1990.

VASCONCELOS, Y. O melhor do lixo: software e nova metodologia de análise indicam a qualidade do composto orgânico usado como adubo. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, n. 19, p. 75-81, set. 2003.

WOODBURY, P. B. Trace elements in municipal solid waste composts: a review onf potential detrimental effects on plants, soil, biota and water quality. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 3, 1990.

ZUCCONI, F.; DE BERTOLDI, M. Organic waste stabilization throughout composting and its compatibility with agricultural uses. In: WISE, D. L. (Ed.). **Global bioconversions**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990.