

**BOLETIM TÉCNICO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA**

**ANÁLISES DE COMPOSTOS
ORGÂNICOS**

Boletim Técnico - n.º 105 - p. 1-22 - ano 2018
Lavras/MG
GOVERNO DO BRASIL

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS**

MINISTRO: José Mendonça Bezerra Filho

REITOR: José Roberto Soares Scolforo

VICE-REITORA: Édila Vilela de Resende Von Pinho

Diretoria Executiva: Marco Aurélio Carbone Carneiro (Diretor) e Nilton Curi (Vice-Diretor)

Conselho Editorial: Marco Aurélio Carbone Carneiro (Presidente), Nilton Curi, Francisval de Melo Carvalho, Alberto Colombo, João Domingos Scalon, Wilson Magela Gonçalves

Administração: Flávio Monteiro de Oliveira

Secretaria Geral: Késia Portela de Assis

Comercial/ Financeiro: Damiana Joana Geraldo Souza, Alice de Fátima Vilela, Vítor Lúcio da Silva Naves, Ana Carolina Cândida da Silva

Revisão de Texto: Rosemary Chalfoun

Referências Bibliográficas: Márcio Assis

Editoração Eletrônica: Renata de Lima Rezende, Patrícia Carvalho de Moraes, Marco Aurélio Costa Santiago

Impressão: Gráfica/UFLA



ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Universidade Federal de Lavras - EDITORA UFLA - Pavilhão 5 (Nave 2) - Caixa Postal 3037 -
37200-000 - Lavras, MG.

Telefax: (35) 3829-1551 Fone: (35) 3829-1089

E-mail: editora@ufla.br

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS.....	6
3 ANÁLISES QUÍMICAS.....	7
3.1 Carbono Orgânico Total – (Standard Methods – 5310).....	7
3.1.1 Materiais.....	7
3.1.2 Princípio do método.....	7
3.1.3 Procedimento experimental.....	7
3.2 pH em água – (Standard Methods – 4500-H+).....	8
3.2.1 Materiais.....	8
3.2.2 Princípio do método.....	8
3.2.3 Procedimento experimental.....	8
3.3 Condutividade elétrica – (Standard Methods – 2510).....	9
3.3.1 Materiais.....	9
3.3.2 Princípio do método.....	9
3.3.3 Procedimento experimental.....	9
3.4 Fósforo – (Standard Methods – 4500-P).....	10
3.4.1 Materiais.....	10
3.4.2 Princípio do método.....	10
3.4.3 Procedimento experimental.....	11
3.5 Nitrogênio – (Standard Methods – 4500-N).....	12
3.5.1 Materiais.....	12
3.5.2 Princípio do método.....	12
3.5.3 Procedimento experimental.....	13
3.5.4 Reações envolvidas:.....	14
3.5.5 Interferentes.....	14
3.6 Coliformes totais e termotolerantes – (Standard Methods – 9221).....	15
3.6.1 Princípio do método.....	15
3.6.2 Materiais.....	15
3.6.3 Preparação dos meios de cultura.....	16
3.6.4 Procedimento experimental.....	16
3.6.4.1 Coliformes totais.....	16
3.6.4.2 Coliformes termotolerantes.....	17
3.6.5 Leitura: Número mais provável (NMP/100 ml):.....	17
3.7 Metais.....	18
4 PADRÕES LEGAIS.....	18
5 REFERÊNCIAS.....	20

ANÁLISES DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

RENAN TEIXEIRA DELFINO¹

CAMILA SILVA FRANCO²

ALINE DOS REIS SOUZA³

RONALDO FIA⁴

HÉVELYN SILVA VILELA⁵

DAYANA CRISTINE BARBOSA MAFRA⁶

DANIELA VILELA LANDIM⁷

1 INTRODUÇÃO

A segregação de dejetos sólidos e líquidos facilita o alcance de melhores eficiências nos tratamentos, contribui para economia no consumo de água e potencializa o reuso agrícola, contribuindo para uma ciclagem completa dos nutrientes. Dejetos fecais e restos vegetais possuem macro e micronutrientes, além de matéria orgânica, os quais podem ser dispostos no solo em benefício às plantas, economizando o uso de fertilizantes químicos. Por este motivo, são estudadas formas de tratamento de resíduos sólidos orgânicos para produção de composto. Salienta-se que há a necessidade de produção de um material estável, aliado à inativação de patógenos, sendo estes os principais fatores que balizam as possibilidades de reuso. Neste sentido, são utilizadas diversas técnicas para o tratamento de resíduos orgânicos, cujos objetivos principais são a estabilização biológica e a inativação de microrganismos patogênicos. Destacam-se, portanto, a compostagem, desidratação e a sanitização com amônio (EMMOTH et al., 2011; VINNERÅS, 2007; MAGRI, 2013; NORDIN et al., 2009; FIDJELAND et al., 2013).

¹Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária, DEG/UFLA

²Graduada em Engenharia Ambiental; Mestre e Doutora em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas; Professora no DEG/UFLA

³Doutoranda em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas, DEG/UFLA

⁴Graduado em Engenharia Agrícola e Ambiental; Mestre e Doutor em Engenharia Agrícola (Recursos Hídricos e Ambientais); Professor no DEG/UFLA

⁵Graduada em Engenharia Ambiental e Sanitária, DEG/UFLA

⁶Graduada em Engenharia Ambiental e Sanitária, DEG/UFLA

⁷Graduada em Engenharia Ambiental e Sanitária, DEG/UFLA

Neste contexto, a produção de composto orgânico proveniente de resíduos vegetais, fezes humanas e de animais requer estudos no sentido de identificar seu potencial de reuso agrícola e garantir maior segurança sanitária. Apresenta-se neste boletim algumas metodologias analíticas para análises químicas, físicas e biológicas em compostos orgânicos.

2 COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS

A coleta de amostras sólidas deve ser realizada por meio de quarteamento, método que visa garantir maior representatividade da amostra coletada. Para tal, deve-se dividir a fração de composto homogeneizada em quatro partes, selecionando dois quartos opostos que serão novamente misturados e homogeneizados para que o procedimento seja repetido até que o volume de cada um dos quartos possua a quantidade de amostra desejada (Figura 1).

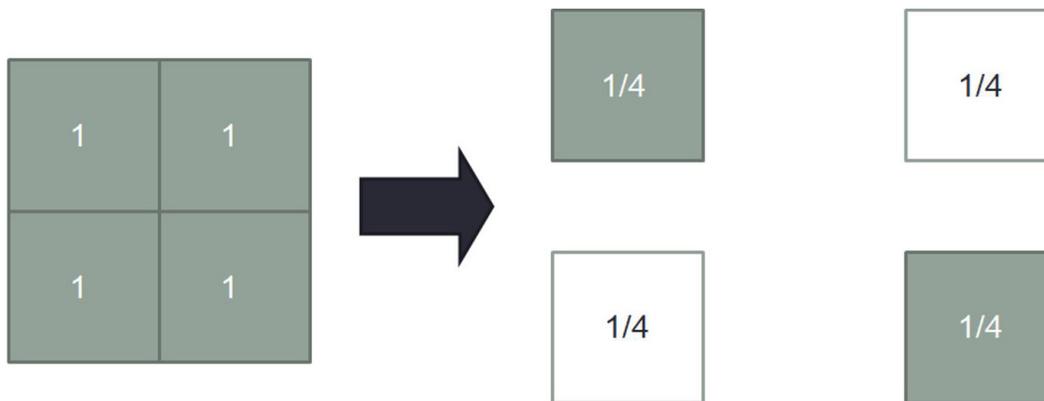


Figura 1 – Amostragem de composto orgânico por meio de quarteamento.

A amostra pode ser armazenada em frasco de plástico, vidro ou sacolas plásticas. O Armazenamento pode ser realizado por até 7 dias mantendo a amostra refrigerada.

Para a maioria dos exames laboratoriais o acondicionamento ideal se dá em refrigeração entre 2° e 8° C. Um acondicionamento inadequado pode resultar em deterioração do material biológico (impedindo a realização do exame), resultado alterado quebra ou vazamento do material (APHA, 2005).

A identificação do material a ser enviado ao laboratório é um passo muito importante para o bom andamento da rotina laboratorial. Os frascos devem estar rotulados com a correta identificação do local e data de amostragem.

3 ANÁLISES QUÍMICAS

3.1 Carbono Orgânico Total – (Standard Methods – 5310)

3.1.1 Materiais

- Balança analítica (precisão 0,0001);
- Erlenmeyer de 250 ml;
- Bureta;
- Pipeta volumétrica;
- Água destilada;
- Dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$);
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4);
- Ácido fosfórico (H_3PO_4);
- Difenilamina ($C_{12}H_{11}N$);
- Sulfato ferroso amoniacal 1M.

3.1.2 Princípio do método

O método baseia-se na oxidação do carbono contido na amostra, por meio da adição de dicromato de potássio em excesso, ácido sulfúrico concentrado e aquecimento externo. O aquecimento é conduzido sob refluxo para evitar a concentração das soluções reagentes, condensar os vapores, e impedir a elevação da temperatura e evitar a decomposição térmica do dicromato. Na sequência, o dicromato de potássio remanescente é determinado por titulação com solução de sulfato ferroso amoniacal padronizado.

3.1.3 Procedimento experimental

1. Pesar 0,1 g da amostra e composto orgânico e transferir para um Erlenmeyer de 250 ml;
 2. Com auxílio da pipeta volumétrica adicionar dez mililitros de dicromato de potássio;
 3. Logo após, adicionar, cuidadosamente, em capela e banho de gelo, 20 ml de ácido sulfúrico concentrado e aguardar esfriar por 30 min;
 4. Adicionar dez mililitros de ácido fosfórico e um mililitro de difenilamina;
 5. Titular com sulfato ferroso amoniacal, com auxílio da Bureta até mudança de coloração de roxo para verde e anotar o volume titulado;
 6. A concentração de carbono orgânico total pode ser calculada pela Equação 1:
-

$$C.O. (\%m/m) = \frac{6C(V_b - V_a)}{G} \quad (1)$$

- V_a = volume da solução titulante de sulfato ferroso amoniacal (SFA) consumido na titulação da amostra, em mililitros.
- V_b = volume da solução titulante de SFA consumido na titulação da prova em branco, em mililitros.
- C = concentração da solução titulante de sulfato ferroso amoniacal, em mol L⁻¹.
- G = massa inicial da amostra, em gramas.

3.2 pH em água – (Standard Methods – 4500-H+)

3.2.1 Materiais

- Balança analítica (precisão 0,0001);
- Erlenmeyer de 125 ml;
- Água destilada;
- Agitador Magnético com movimento circular;
- pHmetro calibrado (precisão 0,1);
- Balão Volumétrico.

3.2.2 Princípio do método

A determinação do pH do composto orgânico consiste em suspender a amostra em água destilada para realizar a medição do pH por potenciometria.

3.2.3 Procedimento experimental

1. Calibrar o pHmetro;
 2. Pesar na balança analítica 10 g da amostra de composto orgânico;
 3. Colocar em um Erlenmeyer e adicionar 50 ml de água destilada com auxílio de um balão volumétrico;
 4. Agitar em agitador magnético com movimento circular a 220 rpm por cinco minutos e deixar descansar por 15 minutos;
 5. Em seguida, realizar a leitura do pH da solução, lavando com água e enxugando bem a célula do pHmetro após cada determinação.
-

3.3 Condutividade elétrica – (Standard Methods – 2510)

3.3.1 Materiais

- Balança analítica (precisão 0,0001);
- Erlenmeyer de 125 ml;
- Água destilada;
- Agitador Magnético com movimento circular;
- Condutímetro digital com célula de condutividade calibrado;
- Balão Volumétrico.

3.3.2 Princípio do método

O método para avaliação da condutividade elétrica é baseado na medida por equipamento convencional de determinação da condutividade (condutímetro). O impulso elétrico é gerado pelo condutímetro, transmitido para a célula de condutividade, e retorna ao aparelho. A diferença entre o potencial gerado e o recebido será processada e o valor informado como condutividade. Esta medida representa uma estimativa do teor total de sais em solução, baseada no princípio de que a resistência à passagem da corrente elétrica, sob condições padronizadas, diminui proporcionalmente com o aumento da concentração de sais.

3.3.3 Procedimento experimental

1. Calibrar o condutímetro.
 2. Pesar na balança analítica cinco gramas da amostra decomposta orgânica m um Erlenmeyer.
 3. Com auxílio de um balão volumétrico adicionar 50 ml de água destilada.
 4. Agitar em agitador magnético com movimento circular a 220 rpm por 30 segundos.
 5. Após 30 minutos realizar a leitura da condutividade elétrica da solução, lavando com água e enxugando bem a célula do condutímetro após cada determinação.
-

3.4 Fósforo – (Standard Methods – 4500-P)

3.4.1 Materiais

- Balança analítica (precisão 0,0001);
- Tubo Micro Kjeldahl;
- Pipeta volumétrica;
- Água destilada;
- Bloco digestor;
- Ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄);
- Ácido nítrico (HNO₃);
- Ácido ascórbico;
- Solução 725 (solução-padrão para curva de calibração);
- Cubeta;
- Espectrofotômetro (precisão 0,001).

3.4.2 Princípio do método

Consiste na solubilização do fósforo da amostra por extração fortemente ácida. A extração é feita com a utilização de ácidos fortemente oxidantes de modo a promover a oxidação completa da matéria orgânica.

O fósforo pode estar presente em uma amostra na forma de ortofosfato, hidrolisável (meta, piro e tripolifosfato), que é transformado em ortofosfato através de hidrólise ácida, ou fósforo orgânico, que é transformado em ortofosfato por meio de digestão com sal ácido (persulfato de amônio/ácido sulfúrico). O método de determinação baseia-se em reações para conversão de todo fósforo em íon ortofosfato.

Como o fósforo pode ocorrer combinado com a matéria orgânica ou em polifosfatos, faz-se necessária uma digestão ácida da amostra para que todas as formas de fósforo possam ser convertidas a ortofosfatos. Os ortofosfatos ficam disponíveis para reação com molibdato de amônio, que, em meio ácido, promove a formação do complexo molibdofosfato, o qual, quando reduzido, possui coloração azul e é, portanto, quantificado em espectrofotômetro a 725 nm.



● Fósforo solúvel: as separações de fósforo solúvel e total dependem da filtração da amostra através de filtro de membrana, de porosidade 0,45 μm . A amostra deve ser filtrada o mais breve possível após a coleta, quando for determinar o fósforo solúvel, uma vez que a taxa de fósforo dissolvido pode ser alterada pela demora da análise.

● Ortofosfatos: para análise somente de ortofosfatos a leitura em espectrofotômetro a 725 nm é realizada com amostra sem digestão. Uma fração insignificante de fósforo hidrolisada pode ser convertida em ortofosfato pela adição do reagente ácido durante o ensaio.

● Fósforo hidrolisável + ortofosfatos: por aquecimento da amostra em presença de ácido, compostos de fósforo hidrolisável como o meta, piro e tripolifosfatos, são convertidos a ortofosfato.

● Fósforo total: A digestão da amostra com persulfato ácido converte todas as formas de fósforo para ortofosfato, incluindo as orgânicas, representa a soma dos ortofosfatos, fósforo hidrolisável e orgânico presentes na amostra. Não determina fosfatos de metais pesados presentes em possíveis sedimentos.

3.4.3 Procedimento experimental

1. Pesar na balança analítica 0,1 g da amostra e para o branco 0,1 ml de água destilada;
2. Colocar a amostra em um tubo Micro Kjeldahl e com auxílio da pipeta volumétrica adicionar, cuidadosamente, cinco mililitros de ácido nítrico e um mililitro de ácido sulfúrico;
3. Aquecer no bloco digestor por uma hora a 50 °C e depois a 100 °C até reduzir o volume e ocorrer liberação de fumaça branca. A temperatura não pode ultrapassar 170 °C.
4. Após esfriar, transferir para um balão volumétrico de 50 ml e completar com água destilada.
5. Retirar um mililitro do balão volumétrico para uma cubeta e completar com nove mililitros da solução trabalho*.
6. Realizar a leitura em um espectrofotômetro a 725 nm e substituir o valor de absorvância na equação de calibração**.

* Solução Trabalho

1. Pesar 0,2 g de ácido ascórbico e dissolver em 100 ml de água destilada.
 2. Depois, pipetar 25 ml da solução 725 no ácido ascórbico.
-

****Curva Padrão**

- a) Pesar 4,3943 g de KH_2PO_4 e secar em estufa;
- b) Pipetar 10 ml de ácido sulfúrico em balão de 1000 ml e completar com água destilada;
- c) Esta solução terá 1000 mg/L de P, diluir para 10 mg/L;
- d) Pipetar 1, 2, 3, 4, 5 ml em balões de 50 ml, completar com água destilada e homogeneizar (diluições);
- e) Pipetar 5 ml de cada balão em um tubo de ensaio, adicionar 5 ml da solução trabalho e realizar a leitura em espectrofotômetro a 725 nm;
- f) Ajustar a curva de calibração e obter a equação para os valores de absorbância em x e concentração de fósforo (mg/L) em y.

3.5 Nitrogênio – (Standard Methods – 4500-N)**3.5.1 Materiais**

- Balança analítica (precisão 0,0001);
- Tubo Micro Kjeldahl;
- Pipeta volumétrica;
- Água destilada;
- Bloco digestor;
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4);
- Mistura catalizadora (Sulfato de potássio e sulfato de cobre);
- Erlenmeyer de 125 ml;
- Solução de ácido bórico (H_3BO_3);
- Solução de hidróxido de sódio (40%);
- Aparelho de destilação semimicro Kjeldahl;
- Ácido sulfúrico 0,01 M.

3.5.2 Princípio do método

Este método fundamenta-se na amonificação de todas as formas não amoniacais de nitrogênio, seguida da destilação alcalina da amônia, que é fixada em uma solução de ácido bórico. O borato de amônio formado é titulado com solução ácida padronizada.

O Nitrogênio está presente em uma amostra de composto na forma orgânica, amoniacal ou oxidado. Para a quantificação do nitrogênio orgânico, a amostra é submetida a uma digestão em meio ácido, na presença de sulfato de cobre e sulfato de potássio. A digestão é necessária para a conversão de todo o nitrogênio orgânico a nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+), temperaturas muito altas podem promover perdas de NH_3 . A adição dos sais possibilita a digestão a temperaturas mais altas, aumentando a eficiência e velocidade do processo. Na sequência, o pH da amostra é elevado por NaOH para converter o íon amônio a amônia. A amostra é então destilada, o ácido bórico preserva a amônia. O borato de amônio é quantificado por titulação com ácido sulfúrico (H_2SO_4).

3.5.3 Procedimento experimental

1. Pesar em balança analítica 0,1 g da amostra e diluir em cinco mililitros de água destilada. E para o branco utilizar 0,1 ml de água destilada;
 2. Colocar a amostra em um tubo Micro Kjeldahl e adicionar um grama da mistura catalizadora;
 3. Com auxílio da pipeta volumétrica adicionar, cuidadosamente, cinco mililitros de ácido sulfúrico concentrado e homogeneizar;
 4. Aquecer no bloco digestor iniciando com temperatura de 100 °C durante 45 minutos, após aumentar a temperatura para 170 °C durante 30 minutos e aumentar novamente a temperatura para 250 °C por 45 minutos, caso não ocorra à viragem de cor (para verde claro/azul, conforme Figura 2), elevar a temperatura para 370 °C e deixar até a mudança de cor. É importante que a temperatura nunca ultrapasse 400 °C para evitar perda de amônia;
 5. Após esfriar, completar com 15 ml de água destilada e ajustar ao destilador.
 6. No outro lado do destilador, colocar um Erlenmeyer de 125 ml com 20 ml da solução de hidróxido de sódio e três mililitros da solução de ácido bórico, ligar o gerador de vapor e destilar 75 ml;
- OBSERVAÇÃO: O fluxo de vapor deve ser controlado de modo que haja destilação sem que ocorresse escape através da ponta do condensador ou borbulhamento da solução absorvente contida no frasco.
7. Titular a solução de 75 ml com ácido sulfúrico 0,01 M;
 8. A concentração de nitrogênio pode ser calculada pela Equação 2.
-

$$N_{(\%)} = \frac{(A - B) \times F \times 0,1 \times 0,014.100}{M_a} \quad (2)$$

A = volume de H₂SO₄ 0,01 M gasto na titulação da amostra (mL);

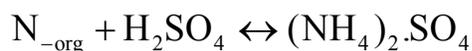
B = volume de H₂SO₄ 0,01 M gasto na titulação do branco (mL);

F = fator de correção do ácido 0,01 mol/L;

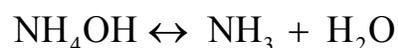
Ma = massa de amostra (g).

3.5.4 Reações envolvidas

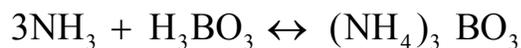
- Digestão ácida:



- Elevação do pH e conversão a amônia:



- Destilação: o condensador do destilador é ligado a um erlenmeyer contendo ácido bórico (H₃BO₃) que reage com a amônia desprendida na destilação produzindo o composto borato de amônio:



- Titulação com ácido sulfúrico:



3.5.5 Interferentes

- Presença de nitrato em concentrações superiores a 10 mg/L pode oxidar a porção da amônia liberada do nitrogênio orgânico digerido, produzindo óxido de nitrogênio, resultando em interferência negativa.
-

- Altos teores de sais inorgânicos podem provocar a elevação da temperatura de digestão, ocorrendo perda de nitrogênio por pirólise. Para prevenir este tipo de interferência, adicionar mais ácido sulfúrico concentrado p.a. para manter o balanço ácido-sal. Normalmente, a adição de 1 ml de ácido sulfúrico por grama de sal na amostra é suficiente (ABNT, 1997).

3.6 Coliformes totais e termotolerantes – (Standard Methods – 9221)

3.6.1 Princípio do método

Os coliformes totais e termotolerantes são os microrganismos indicadores de contaminação fecal por serem abundantes, apresentarem resistência a processos de inativação semelhante aos demais microrganismos patogênicos e de fácil determinação. A técnica mais utilizada para análise de água para a identificação de coliformes é a quantitativa dos tubos múltiplos. A técnica consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento das bactérias. Por meio de diluições sucessivas da amostra, são obtidos inóculos cuja semeadura fornece resultados negativos em pelo menos um tubo da série e a combinação de resultados positivos e negativos permite a obtenção de uma estimativa da densidade das bactérias pesquisadas, por meio da aplicação de cálculos de probabilidade.

3.6.2 Materiais

- Balança analítica (precisão 0,0001);
 - Agitador magnético
 - Autoclave que permita a circulação do vapor ao redor do material a ser esterilizado.
 - Incubadora bacteriológica equipada com termostato para operar a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - Incubadora bacteriológica equipada com termostato para operar a $44,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - Frasco para coleta de amostras: de vidro neutro ou plástico autoclavável atóxico
 - Pipeta de 5 ml
 - Tubos de Durham: de borossilicato ou vidro neutro, de 9 mm de diâmetro e 45 mm de comprimento.
-

- Tubos de ensaio: de borossilicato ou vidro neutro, de 15 ou 16 mm de diâmetro x 150 mm de comprimento, e de 18 mm de diâmetro x 180 mm de comprimento, com tampas frouxas.
- Bico de Bunsen ou similar
- Estantes para colocação dos tubos de ensaio empregados na análise.

3.6.3 Preparação dos meios de cultura

- Preparar a solução de caldo lauril: pesar 17,8 g de lauril, adicionar 500 ml de água destilada em Becker e agitar por 10 min no agitador magnético;
- Preparar a solução de peptona: pesar 0,5 g de peptona, adicionar 500 ml de água destilada;
- Preparar o caldo EC: pesar 18,5 g de EC, adicionar 500 ml de água destilada e agitar por 10 min em agitador magnético;
- Inserir os tubos de Durham invertidos nos tubos de ensaio e completar com o caldo lauril e com EC de forma a excedê-los, tampar com algodão e cobrir com papel alumínio em potes de plástico;
- Autoclavar por 30 min e reservar em refrigerador.

Nota: Antes da utilização das soluções-estoque deve-se verificar se não há quaisquer evidências de contaminação microbiana (turbidez, presença de material em suspensão). Em caso afirmativo, essa solução deve ser descartada.

3.6.4 Procedimento experimental

Pesar na balança analítica 1 g da amostra de composto e diluir em vinte mililitros de água destilada com agitação.

3.6.4.1 Coliformes totais

a) Após diluição, desinfetar a bancada, acender o bico de Bunsen, coletar 4 ml da solução composto mais água destilada com uma pipeta, destinar 1 ml para a peptona e os outros 3 ml para 3 tubos de caldo lauril. Proceder assim mais 3 vezes, completando as 3 diluições;

b) Incubar a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 dias e fazer a leitura. Os tubos que apresentarem caldo turvo e produção de gás no tubo de Durham são positivos, os demais, negativos.

Nota: A escolha da diluição em peptona deve ser feita cuidadosamente pelo analista (com base em sua experiência sobre a provável quantidade de coliformes presentes na amostra ou em dados prévios sobre a mesma), de tal modo que pelo menos um tubo inoculado com o menor volume selecionado forneça resultado negativo. Para amostras de compostos fecais, recomenda-se diluições acima de 10^5 .

3.6.4.2 Coliformes termotolerantes

- a) Após a leitura dos coliformes totais, desinfetar a bancada, acender o bico de Bunsen, aquecer a alça de platina até avermelhar, imergir a alça no caldo EC para esfriar e, imediatamente após, no tubo com lauril positivo e retornar ao tubo com EC. Feito isso no primeiro tubo, retornar a alça no fogo e repetir a operação para os próximos tubos de resultado positivo;
- b) Incubar a $44,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ por mais 2 dias e fazer a leitura, da mesma forma que foi feito para coliformes totais.

3.6.5 Leitura: Número mais provável (NMP/100 ml)

A densidade de coliformes é expressa como NMP por 100 ml, o qual é obtido como no Quadro 1 a seguir, em que são dados os limites de confiança de 95% para cada valor de NMP determinado.

Quadro 1 – NMP (número mais provável) – Série de 3 tubos.

Nº significativo	NMP/mL	Nº significativo	NMP/mL	Nº significativo	NMP/mL
000	0,0	201	1,4	302	6,5
001	0,3	202	2,0	310	4,5
010	0,3	210	1,5	311	7,5
011	0,6	211	2,2	312	11,5
020	0,6	212	3,0	313	16,0
100	0,4	220	2,0	320	9,5
101	0,7	221	3,0	321	15,0
102	1,1	222	3,5	322	20,0
110	0,7	223	4,0	323	30,0
111	1,1	230	3,0	330	25,0
120	1,1	231	3,5	331	45,0
121	1,5	232	4,0	332	110,0
130	1,6	300	2,5	333	+140,0
200	0,9	301	4,0	*****	*****

Exemplo: Suponhamos que os resultados para coliformes totais e termotolerantes sejam como o quadro 2. Lê-se a série de três tubos da direita para esquerda, considerando sempre a última diluição quando aparece pelo menos 1 (um) tubo negativo, contando a quantidade de tubos positivos.

Quadro 2 – Exemplo de resultados para coliformes totais e termotolerantes por tubos múltiplos.

Coliformes totais					
D D D	-1 -1 -1	-2 -2 -2	-3 -3 -3	-4 -4 -4	
+++	+++	+++	+ - +	+ - -	321
Coliformes termotolerantes					
D D D	-1 -1 -1	-2 -2 -2	-3 -3 -3	-4 -4 -4	
+++	++ -	++ -	+ - -	- - -	221

O valor de coliformes totais será, portanto, de $15,0 \times 10^4$ NMP/ml. O expoente 3 diz respeito a 3ª diluição, cujo resultado ainda apresentou um tubo negativo. Como o valor deve ser sempre fornecido por 100 ml da amostra, o resultado final de coliformes totais é de 15×10^6 NMP/100 ml. Para os coliformes termotolerantes o resultado será de $3,0 \times 10^5$ NMP/100 ml.

Nota: Os coliformes totais sempre resultarão em quantidades maiores ou iguais aos coliformes termotolerantes.

3.7 Metais

Para determinação de metais em compostos orgânicos, o método consiste em digerir a amostra conforme metodologia descrita para análise de fósforo (item 9) para promover a liberação de formas orgânicas do metal de interesse, seguida de leitura em espectrometria de absorção atômica (ASS) – F-ASS.

4 PADRÕES LEGAIS

No Brasil, as leis que podem ser utilizadas como orientadoras para avaliação da qualidade de compostos orgânicos fecais e sua aplicação no solo são:

- Instrução Normativa nº 25 de 2009 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, a qual que aborda as 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 (BRASIL, 2009a);

- Resolução nº 375 de 2006 do Conselho Nacional de Meio Ambiente, a qual define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados (BRASIL, 2006);
- Resolução nº 420 de 2009 do Conselho Nacional de Meio Ambiente, a qual dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. (BRASIL, 2009b)

Tabela 1 – Especificações dos Fertilizantes Orgânicos Simples.

Variáveis	IN 25 MAPA
	Valor mínimo para comercialização (dag kg ⁻¹)
C	15
N	0,5
P	1
K	1
Mg	1
B	0,03
Fe	0,2
Mn	0,05

*Instrução Normativa nº 25 – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. BRASIL (2009a).

Tabela 2 – Normas relativas de metais pesados à utilização de composto orgânico para disposição em solo agrícola.

Variáveis	Resolução CONAMA nº 375		Resolução CONAMA nº 420	
	CMP (mg/Kg)	CATP (Kg/ha)	VP (mg/Kg)	VI (mg/Kg)
Arsênio	41	30	15	35
Bário	1300	265	150	300
Cádmio	39	4	1,3	3
Chumbo	300	41	72	180
Cobre	1500	137	60	200
Cromo	1000	154	75	150
Mercúrio	17	1,2	0,5	12
Molibdênio	50	13	30	50
Níquel	420	74	30	70
Selênio	100	13	5	-
Zinco	2800	445	300	450

CMP: Concentração máxima permitida; CATP: Carga acumulada teórica permitida; VP: Valor de Prevenção; VI: Valor de Investigação; CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente (BRASIL, 2006; BRASIL, 2009b).

Tabela 3 – Classes de lodo de esgoto ou produto derivado - agentes patogênicos conforme Resolução CONAMA nº 375.

Tipo	Concentração de patógenos
A	Coliformes Termotolerantes <math><10^3</math> NMP/g de ST
	Ovos viáveis de helmintos <math><0,25</math> ovo/g de ST
	<i>Salmonella</i> ausência em 10 g de ST
	Vírus <math><0,25</math> UFP ou UFF/g de ST
B	Coliformes Termotolerantes <math><10^6</math> NMP/g de ST
	Ovos viáveis de helmintos <math><10</math> ovo/g de ST

*ST: Sólidos Totais; NMP: Número Mais Provável; UFF: Unidade Formadora de Foco; UFP: Unidade Formadora de Placa

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington: APHA-AWWA-WEF, 2005. 1195 p.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. Washington: APHA-AWWA-WEF, 2005. 1195 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13796: Água - Determinação de nitrogênio orgânico, Kjeldahl e total – Métodos macro e semimicro Kjeldahl. Rio de Janeiro, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 25, de 23 de julho de 2009. 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. Brasília: DOU, 2009a. p.20-24. (Seção 1, nº142, de 28 de julho 2009).

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Brasília: DOU, 2009b. p.81-84. (Seção 1, nº 249, de 30 de dezembro 2009).

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 375, 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. Brasília: DOU, 2006. p.141-146. (Seção 1, nº 167, de 30 de agosto 2006).

EMMOTH, E. et al. Ammonia disinfection of hatchery waste for elimination of single-stranded RNA viruses. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 77, n. 12, p. 3960-3966, June 2011.

FIDJELAND, J. et al. The potential for self-sanitisation of faecal sludge by intrinsic ammonia. *Water Research*, New York, v. 47, p. 6014-6023, 2013.

MAGRI, M. E. Aplicação de processos de estabilização e higienização de fezes e urina humanas em banheiros secos segregadores. 2013. 193 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

NORDIN, A.; NYBERG, K.; VINNERAS, B. Inactivation of ascaris eggs in source-separated urine and feces by ammonia at ambient temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 75, n. 3, p. 662-667, 2009.

VINNERÅS, B. Comparison of composting, storage and urea treatment for sanitizing of faecal matter and manure. *Bioresource Technology*, Essex, v. 98, p. 3317-3321, 2007.
