

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

**PROGRAMA DE BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO
CARLOS**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE
CROMO E ZINCO EM BIOSSÓLIDO**

Régis Benzan

Dissertação apresentada ao Programa de
Biotecnologia da Universidade
Federal de São Carlos,
para obtenção do título de mestre em Biotecnologia

ORIENTADORA: Prof^a Dr^a Maria Olímpia de Oliveira Rezende

Prof. Dr. Marcos Antônio Sanches Vieira

São Carlos

2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

B479vm

Benzan, Régis.

Validação de metodologia analítica para determinação de cromo e zinco em biossólido / Régis Benzan. -- São Carlos : UFSCar, 2012.

66 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Biotecnologia. 2. Biossólidos. 3. Estudos de validação. 4. Química. 5. Metodologia. 6. Caracterização. I. Título.

CDD: 660.6 (20^a)

Régis Benzan

Dissertação de Mestrado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal de São Carlos, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia

Aprovado em: 06/12/2010

BANCA EXAMINADORA

Maria Olímpia de Oliveira Rezende

Profa./Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende(Orientadora)
IQSC/USP

Wilson Tadeu Lopes da Silva

Prof. Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva
EMBRAPA

Odete Rocha

Profa. Dra. Odete Rocha
DEBE/UFSCar

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dr^a Maria Olímpia de Oliveira Rezende pela orientação, confiança e oportunidade de integrar a equipe do laboratório de Química ambiental no Instituto de Química de São Carlos na USP.

A Dr^a Diva Landgraf pelos ensinamentos diários e dicas no laboratório de química ambiental.

Aos colegas do laboratório de química ambiental pelas dicas e pela amizade.

A minha família, em especial, meus pais que sempre contribuíram para me ensinar valores de hombridade com seus exemplos honestidade e dedicação incondicional à família. E a minha irmã Débora, pela força, conselhos e por sempre acreditar em mim.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO.....	i
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Lodo de esgoto doméstico	14
1.2 Disposição do lodo de esgoto	14
1.3 Requisitos mínimos de qualidade do lodo de esgoto destinado à agricultura	16
1.4 Relevância do tratamento do esgoto	16
2 OBJETIVO	18
3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	19
3.1 Elementos	19
3.1.1 Equipamentos.....	19
3.2 Espectrofotômetro UV / Visível.....	19
3.2.1 Lei de Beer-Lambert	20
3.2.2 Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente - ICP/OES.....	20
3.3 Cálcio	20
3.3.1 Ocorrência e significância.....	20

3.4	Cromo.....	21
3.4.1	Ocorrência e significância.....	21
3.5	Cobre.....	21
3.5.1	Ocorrência e significância.....	21
3.6	Fósforo	22
3.6.1	Ocorrência e significância.....	22
3.7	Magnésio.....	22
3.7.1	Ocorrência e significância.....	22
3.8	Nitrogênio	24
3.8.1	Ocorrência e significância.....	24
3.9	Potássio.....	24
3.9.1	Ocorrência e significância.....	24
3.10	Zinco.....	25
3.10.1	Ocorrência e significância.....	25
4	VALIDAÇÃO	25
4.1	Figuras de mérito.....	26
4.1.1	Curva analítica.....	27
4.1.2	Linearidade de resposta	27
4.1.3	Sensibilidade	28
4.1.4	Seletividade	28
4.1.5	Limite de Detecção (LD).....	29

4.1.6	Limite de Quantificação (LQ)	30
4.1.7	Exatidão	30
4.1.8	Comparação de métodos.....	30
4.1.9	Precisão.....	31
4.1.10	Comparação da precisão entre métodos	32
4.1.11	Recuperação	32
5	METODOLOGIA	33
5.1	Coleta de amostras	33
5.2	Preparação da amostra	33
5.3	Umidade a 65°C e 110°C	33
5.4	Determinação de pH.....	34
5.5	Teor de matéria orgânica e cinza	35
5.5.1	Teor de matéria orgânica.....	35
5.5.2	Teor de cinza	35
5.6	Carbono orgânico total	35
5.7	Determinação dos teores de nitrogênio e fósforo	36
5.7.1	Determinação do TKN segundo o método 8075 do espectrofotômetro Hach (<i>Cotta et. all</i> , 2007)	36
5.7.2	Determinação colorimétrica de fósforo	37
5.7.3	Determinação de fosfato – Método 4500 (APHA, 1999).....	38
5.7.4	Preparo da Solução de vanadato-molibdato.....	39

5.8	Determinação de elementos por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente - ICP/OES	39
5.9	Determinação colorimétrica de metais	40
5.9.1	Preparo das amostras.....	40
5.9.2	Limpeza do material utilizado	40
5.9.3	Interferentes.....	40
5.10	Determinação colorimétrica de cromo total	41
5.10.1	Resumo do método de oxidação alcalina pelo hipobromito.....	41
5.10.2	Interferentes.....	41
5.10.3	Procedimento.....	41
5.11	Determinação colorimétrica de zinco.....	42
5.11.1	Resumo do método Zincon.....	42
5.11.2	Interferentes.....	42
5.11.3	Procedimento.....	43
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1	Caracterização das amostras de lodo	45
6.1.1	Concentração de elementos no lodo de esgoto ETE-Monjolinho	46
6.2	Validação.....	46
6.2.1	Validação do método para determinação de cromo	46
6.2.2	Validação do método para determinação de zinco	52
6.3	Métodos espectrofotométricos validados pelo LQA.....	58
7	Curvas analíticas para determinação de elementos no biossólido	59

7.1	Potássio por fotômetro de chama.....	59
7.2	Cobre por ICP-OES.....	60
7.3	Cálcio por AAS.....	60
7.4	Magnésio por ICP-OES.....	61
8	CONCLUSÃO.....	63
	REFERÊNCIAS.....	64

ÍNDICES DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração máxima permitida no lodo de esgoto	16
Tabela 2 – Substâncias interferentes para cromo total.....	41
Tabela 3 - Substâncias interferentes para zinco.....	42
Tabela 4 - Caracterização físico-química de amostras de lodo	45
Tabela 5 - Concentração de Elementos no lodo de esgoto da ETE - Monjolinho.....	46
Tabela 6 - Desvio Padrão curva analítica de Cr por UV/Vis	49
Tabela 7 - Tabela de recuperação do método Cr pelo método adição de padrão	50
Tabela 8 - Resultados estatísticos por espectrofotometria UV/Vis e ICP - OES..	51
Tabela 9 - Valores calculados de F e t = 0,95 (95%).....	52
Tabela 10 - Desvio padrão da curva analítica de zinco	55
Tabela 11 - Tabela recuperação do Zn pelo método adição de padrão	56
Tabela 12 - Resultados estatísticos por espectrofotometria UV/Vis e ICP - OES.....	57
Tabela 13 - Valores calculados de F e t = 0,95 (95%).....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Curva analítica para determinação de cromo por UV-Vis	47
Figura 2 - Curva analítica para determinação de Cr por ICP – OES	48
Figura 3 –Curvas para determinação seletividade de Cr por espectrofotometria UV/Vis	49
Figura 4 - Curva analítica para a determinação de Zinco por espectrofotometria UV-Vis	53
Figura 5 - Curva analítica para determinação de Zinco por ICP - OES	54
Figura 6- Curvas para determinação seletividade de Cr por espectrofotometria UV/Vis	55
Figura 7- Curva analítica para determinação de K por fotômetro de chama	59
Figura 8 - Curva analítica para determinação de Cobre- ICP-OES	60
Figura 9 - Curva analítica para determinação de Ca por AAS.....	61
Figura 4 - Curva analítica para determinação de Magnésio - ICP-OES	62

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA - American Public Health Association

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE

CV – coeficiente de variação

DOQ-CGCRE - ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

DP – Desvio-padrão

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EPA – Environmental Protection Agency

ETE – Estação de tratamento de esgoto

ICH - International Conference on Harmonisation

ICP-OES - Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

ISO - International Organization for Standardization

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

OD – oxigênio dissolvido

TKN – Total Kjeldahl Nitrogen

TOC – Total Organic Carbon

UV/Vis – Ultra violeta / visível

RESUMO

A utilização do lodo de esgoto em solos agrícolas tem como principais benefícios a incorporação dos macronutrientes nitrogênio e fósforo e dos micronutrientes zinco, cobre, ferro, manganês e molibdênio. Pode-se dizer que, normalmente, o lodo de esgoto fornece ao solo os nutrientes para as culturas, no entanto, é necessário ter conhecimento da sua composição, a fim de se calcularem as quantidades adequadas a serem incorporadas, sem correr o risco de toxicidade às plantas e em certas situações aos animais e ao homem e, também, sem contaminar o ambiente. No presente trabalho propõe-se a utilização de lodo de esgoto para adição em solos agricultáveis. Para tanto, fez-se necessário caracterizar o lodo a ser adicionado. Vários parâmetros são empregados para a caracterização do lodo, a saber: valor agrônômico, elementos tóxicos e estabilidade. A metodologia analítica oficialmente aceita para determinação de metais envolve a espectroscopia de absorção atômica ou a espectroscopia de emissão óptica acoplada a plasma induzido. Neste trabalho, propõe-se a validação da metodologia de determinação dos parâmetros Zn e Cr por espectrofotometria utilizando o equipamento Spectrophotometer, modelo DR/2500, marca HACH. Assim, validou-se um método em que as análises são feitas com rapidez, segurança, confiabilidade e baixo custo, quando comparado com os métodos oficiais. A validação dos elementos Cr e Zn foi efetuada com sucesso. Todos os parâmetros para a caracterização físico-química avaliados neste trabalho encontraram-se dentro dos valores máximos permitidos para disposição agrícola do biossólido conforme legislação vigente.

ABSTRACT

The use of sewage sludge on agricultural soils has the main benefits the incorporation of the macronutrients nitrogen and phosphorus and the micronutrients zinc, copper, iron, manganese and molybdenum. You could say that, normally, the sewage sludge provides nutrients to the soil for crops, however, you must have knowledge of their composition in order to calculate the appropriate quantities to be incorporated, without the risk of toxicity plants and animals in certain situations and to man, and also without contaminating the environment. In this paper it is proposed the use of sewage sludge in addition to agricultural soils. Therefore, it is necessary to characterize the sludge to be added. Several parameters are used to characterize the sludge, namely: agronomic value, heavy metals, stability and sanity. The officially accepted analytical methodology for determination of elements involves atomic absorption spectroscopy or optical emission spectroscopy coupled to inductively coupled plasma. In this project, it is proposed to validate the methodology for determining the parameters: Zn and Cr by spectrophotometry using equipment Spectrophotometer, model DR/2500, HACH brand. Therefore, because of demand, it is necessary to validate a method where the tests are done with speed, safety, reliability and low cost compared with the official methods. The validation of the elements Cr and Zn was successful. All parameters for the physical and chemical characteristics were within the values permitted for disposal of biosolids as agricultural legislation.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Lodo de esgoto doméstico

O grande desenvolvimento das populações urbanas é responsável pela produção diversos resíduos, que nem sempre são adequadamente tratados ou reciclados. Dentre eles, destaca-se o lodo de esgoto tratado ou biossólido, resultante de estações de tratamento de esgoto (ETE) (NASCIMENTO et. al., 2004). A disposição final adequada desse resíduo é uma etapa problemática no processo operacional de uma estação de tratamento de esgoto e pode alcançar até 50% do orçamento operacional de um sistema de tratamento de esgoto. As alternativas para a disposição final ou aproveitamento do lodo são: disposição em aterro sanitário, reuso industrial, incineração, conversão em óleo combustível, disposição oceânica, recuperação de solos e uso agrícola e florestal. Uma das alternativas mais convenientes seria para fins agrícolas, porque o lodo de esgoto é rico em matéria orgânica, macro e micronutrientes e sua aplicação é recomendada como condicionador e/ou fertilizante do solo (BETTIOL, CAMARGO, 2000).

1.2 Disposição do lodo de esgoto

O principal problema relacionado ao uso de lodo de esgoto em áreas agrícolas, é que o mesmo possui efeitos desconhecidos devido à população de microrganismos, à dinâmica de carbono e nitrogênio, ao comportamento dos elementos tóxicos e patógenos humanos no solo. Sabendo-se que a aplicação de lodo de esgoto causa essas alterações, há a necessidades de se identificá-las para se verificar se não serão prejudiciais aos agrossistemas, para os organismos, para o desenvolvimento das culturas e para o meio ambiente (BETTIOL, CAMARGO, 2006).

A aplicação do lodo de esgoto no solo pode aumentar a retenção de umidade em solos arenosos, melhorar a permeabilidade e infiltração nos argilosos, melhorar o estado de agregação de partículas no solo, diminuir sua densidade, aumentar a capacidade de troca de cátions. Porém, o lodo de esgoto pode também apresentar em sua composição elementos tóxicos e agentes patogênicos ao homem (BETTIOL, CAMARGO, 2000).

O uso de lodo de esgoto doméstico na agricultura pode ser limitado devido à presença de elementos tóxicos. Em geral, as concentrações de elementos encontrados no lodo são muito maiores que as naturalmente encontradas em solos, sendo necessária a avaliação dos riscos associados ao aumento desses elementos no ambiente, em decorrência da aplicação desse resíduo. Alguns micronutrientes, tais como: Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn, são necessários às plantas, mas que em altas concentrações podem causar sérios problemas (ANDRADE, ABREU, 2006).

A incineração por combustão de materiais controlada até produtos simples mineralizados, como dióxido de carbono e água, é um procedimento ainda muito discutido. Alguns acreditam que é uma saída para eliminar riscos para a saúde pública, e outros defendem que a má operação dos incineradores representa mais uma forma de poluição atmosférica (BAIRD, 2002).

A disposição final mais utilizada ainda é a deposição desses resíduos em aterro sanitário. Entretanto, tais aterros precisam ser construídos de tal forma a garantir que o material depositado não entre em contato com o solo, e não haja percolação de líquidos para o aquífero livre (CETESB, 1999).

A Resolução 375 de 2006 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) exige a caracterização do lodo para avaliação de seu potencial agrônomo. Além de macro e micronutrientes, as substâncias potencialmente

tóxicas também devem ser determinadas.

1.3 Requisitos mínimos de qualidade do lodo de esgoto destinado à agricultura

Os lotes de lodo de esgoto devem respeitar os limites máximos de concentração conforme tabela 1.

Tabela 1 – Concentração máxima permitida no lodo de esgoto

Substâncias inorgânicas	(mg.kg ⁻¹ , base seca)
Arsênico	41
Cádmio	39
Chumbo	300
Cobre	1500
Cromo	1000
Mercúrio	17
Molibdênio	50
Níquel	420
Selênio	100
Zinco	2800

(CONAMA, 2006)

1.4 Relevância do tratamento do esgoto

A água é um dos recursos naturais mais preciosos da humanidade, pois é diretamente responsável pela manutenção e bem-estar da espécie humana e da biodiversidade animal e vegetal. A industrialização tem produzido o crescimento desordenado dos grandes centros urbanos que estão contribuindo muito para a degradação dos corpos hídricos. Grande parte das águas residuárias geradas pela comunidade são lançadas nos rios com tratamento inadequado, ou sem tratamento algum (Busato, 2004).

Face ao exposto, para garantir que a água não se torne um recurso natural

não renovável, medidas de proteção e preservação aos corpos hídricos devem ser tomadas, dentre elas está a coleta e tratamento do esgoto. Segundo HAANDEL e LETTINGA (1994), “O objetivo principal do tratamento de esgoto é corrigir as características indesejáveis, de tal maneira que o seu uso ou a sua disposição final possa ocorrer de acordo com as regras e critérios definidos pelas autoridades legislativas”.

Para alcançar o objetivo descrito, o tratamento deverá reduzir a concentração dos principais constituintes do esgoto, quais sejam: sólidos, matéria orgânica, nutrientes e organismos patogênicos. A remoção apenas da parte visível dos poluentes, ou seja, os sólidos sedimentáveis realizados através da sedimentação simples, chamada de tratamento primário, não é suficiente para uma proteção adequada dos corpos d’água. Devido à presença de material orgânico solubilizado no esgoto após a sedimentação, ocorre a queda no nível de oxigênio dissolvido (OD) e conseqüentemente a depleção parcial ou total do corpo receptor. Isto se deve ao fato de que os microrganismos envolvidos na depuração do esgoto usam o oxigênio disponível no meio líquido para a sua reprodução e respiração. Desta forma torna-se necessária a remoção da matéria orgânica por tratamento secundário (HAANDEL e LETTINGA, 1994).

A descarga de efluentes do tratamento secundário pode ainda ocasionar a deterioração dos corpos d’água, pois, na maioria dos casos, esses contêm grande quantidade de nutrientes, em especial nitrogênio e fósforo. Desta forma, em alguns casos existe a necessidade do tratamento terciário, pois esses elementos, disponíveis em abundância, tendem a causar um crescimento excessivo da vida aquática, que os utiliza para a síntese celular. Dessa maneira o grande desenvolvimento de biomassa pode reduzir a concentração de OD, ocasionando o

fenômeno de deterioração da qualidade da água chamado de eutrofização (HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Face ao exposto, deve-se ressaltar que a escolha do sistema de tratamento mais adequado deve levar em consideração que a qualidade do efluente esteja de acordo com os padrões exigidos pela legislação vigente. Neste sentido, a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 357 de 2005 estabelece para cada classe de água os padrões de qualidade a serem obedecidos e impõe a qualidade mínima a ser atendida por efluentes de qualquer fonte poluidora, para lançamento em corpos d'água (HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Posto isto, é importante a garantia da viabilidade técnica do tratamento, levando-se em consideração o custo de implantação e operação, a disponibilidade de área para instalação, equipamentos necessários e mão-de-obra especializada.

2 OBJETIVO

Os objetivos desta pesquisa são: validar um método em que as análises espectrofotométricas sejam feitas com rapidez, segurança, confiabilidade e baixo custo, quando comparado com os métodos oficiais e dar subsídios à correta disposição do resíduo final na agricultura, determinando os procedimentos necessários a serem realizados, tais como rastreabilidade e garantia do fertilizante produzido; caracterizar os resíduos do lodo de esgoto tratado para utilização como adubo nas plantações de eucaliptos como forma de disposição de lodo doméstico na agricultura, sempre com base na legislação CONAMA Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006.

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1 Elementos

3.1.1 Equipamentos

Para determinação dos elementos P, Ca, Mg, N, K, Cd, Zn, Cu, Ni, Cr e Pb neste trabalho foi utilizado um espectrofotômetro de UV/Vis da marca Hach modelo DR/2500 e um espectrômetro de emissão ótica com plasma acoplada indutivamente, marca Perkin-Elmer modelo Optima 3100 DV, instalado no laboratório de análises químicas no campus da USP de São Carlos.

3.2 Espectrofotômetro UV / Visível

O instrumento usado na espectroscopia UV/Vis é chamado de **espectrofotômetro**. Para se obter informação sobre a absorção de uma amostra, ela é inserida no caminho óptico do aparelho. Então, luz UV e/ou visível em certo comprimento de onda (ou uma faixa de comprimentos de onda) é passada pela amostra. O espectrofotômetro mede o quanto de luz foi absorvida pela amostra. A intensidade da luz antes de passar pela amostra é simbolizada por I_0 , e a intensidade da luz depois de passar pela amostra é simbolizada por I (intensidade transmitida pela amostra). A transmitância da amostra é definida pela razão (I/I_0) , a qual normalmente é expressa em porcentagem de transmitância (%T). A partir dessa informação, a absorbância da amostra é determinada para esse certo comprimento de onda ou como função de uma faixa de comprimentos de onda. Os espectrofotômetros mais sofisticados normalmente fazem isso automaticamente.

3.2.1 Lei de Beer-Lambert

O tratamento quantitativo da absorção da energia radiante depende da lei geral, conhecida como lei de Beer-Lambert: O método utilizado para determinar de um modo quantitativo a concentração de substâncias em solução que absorvem radiação, é pela Lei de Beer-Lambert.

$$A = -\log_{10}(I/I_0) = \epsilon \cdot c \cdot L$$

onde A é o valor da absorbância medida, I_0 é a intensidade da luz incidente a um dado comprimento de onda, I é a intensidade transmitida pela amostra, L é o caminho óptico pela amostra (distância que a luz percorreu por ela), ϵ é uma constante conhecida como absorvidade molar (a qual varia de substância para substância), e c é a concentração da substância em (mol/L).

3.2.2 Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente - ICP/OES

É utilizado para determinação multielementar de metais em soluções. Matrizes sólidas necessitam de digestão ácida (Método EPA 3050B) antes da análise. O instrumento mede o espectro de emissão característico por espectrometria ótica. O espectro de emissão do elemento-específico é produzido por um plasma acoplado indutivamente de radiofrequência. Os espectros são dispersos pelo espectrômetro e a intensidade das linhas de emissão é monitorada por um dispositivo fotossensível (EPA, 2007).

3.3 Cálcio

3.3.1 Ocorrência e significância

O cálcio é o terceiro elemento no grupo IIA da tabela periódica; tem um peso

atômico de 20 e uma massa atômica de 40,08 e uma valência de 2. A abundância de cálcio na crosta terrestre é de 4,9%; no solo é de 0,07 a 1,7%; e em córregos é em torno de 15 mg L⁻¹ e em águas subterrâneas é de 1 a >500 mg L⁻¹. As formas mais comuns de cálcio são carbonato de cálcio (calcita) e carbonato de cálcio-magnésio (dolomita). Compostos de cálcio são amplamente utilizados em fármacos, fotografia, cal, pigmentos, fertilizantes (APHA, 1999).

3.4 Cromo

3.4.1 Ocorrência e significância

Cromo é o primeiro elemento no grupo VIB na tabela periódica; e tem número atômico de 24, uma massa atômica de 51,99, e valência de +1 a +6. A abundância média de Cr na crosta terrestre é de 122 mg kg⁻¹; em solos varia de 11 a 22 mg kg⁻¹; em cursos d'água é de 1 µg L⁻¹ e em águas subterrâneas é geralmente encontrado em concentrações de 100 µg L⁻¹ (APHA, 1999).

3.5 Cobre

3.5.1 Ocorrência e significância

Cobre é o primeiro elemento do Grupo IB na tabela periódica; tem um número atômico 29, uma massa atômica de 65,54 e uma valência de +1 e +2. A abundância de cobre na crosta terrestre é de 68 mg kg⁻¹, em solos é de 9 a 33 mg kg⁻¹, e em águas subterrâneas é <0,1 mg L⁻¹. Cobre ocorre em seu estado nativo, mas também é encontrado em muitos minerais, o mais importante deles são aqueles que contêm compostos de sulfeto, mas também aqueles com óxidos e carbonatos. Cobre é largamente utilizado em fiações elétricas, ligas, utensílios de cozinha, bombas e indústrias químicas (APHA, 1999).

Cobre é considerado um elemento traço essencial para plantas e animais

(APHA, 1999).

3.6 Fósforo

3.6.1 Ocorrência e significância

Fósforo ocorre em águas naturais e águas residuárias quase que exclusivamente como fosfatos. Estes são classificados como ortofosfatos, fosfatos condensados (piro-, meta- e outros polifosfatos), e fosfatos ligados organicamente. Eles ocorrem em partículas, soluções ou detritos, ou nos corpos de organismos aquáticos. Fosfatos orgânicos são formados principalmente por processos biológicos. Eles contribuem para o esgoto com resíduos de alimentos e corpos e também podem ser formados de ortofosfatos em processos de tratamento biológico (APHA, 1999).

Fósforo é essencial para o crescimento de organismos e pode ser um nutriente limitante em corpos d'água. Fósforo também ocorre em sedimentos e lodos biológicos, os dois como formas inorgânicas precipitadas e incorporados em compostos orgânicos (APHA, 1999).

3.7 Magnésio

3.7.1 Ocorrência e significância

Magnésio é do grupo IIA da tabela periódica. Foi descoberto em 1808 por Sir Humphry Davy, para quem o composto conhecido como magnésia branca era o óxido de um novo metal. Ao fazer circular vapores de potássio sobre magnésia quente, extraiu o magnésio, utilizando mercúrio como catodo. Em ambos os casos obteve o magnésio como amálgama. O metal pode ser isolado a partir de 1852, quando o alemão Robert Bunsen fabricou uma célula eletrolítica que permitia obtê-lo

a partir do cloreto de magnésio.

O magnésio é muito abundante na natureza, sua abundância na crosta terrestre é de 2,1%, em solos é de 0,03 a 0,84%; em córregos é de 4 mg L⁻¹ e em água subterrâneas é < 5 mg L⁻¹. Magnésio ocorre principalmente em minerais rochosos como dolomita, olivina, magnesita e serpentina. Encontra-se também na água do mar, em águas salinas subterrâneas e em leitos salinos (APHA 1999).

A espécie mais comum de magnésio é Mg²⁺. As reações de equilíbrio de carbonato para o magnésio são mais complicadas do que o cálcio e condições para precipitação direta de dolomita em águas naturais não são comuns. É também um importantes contribuinte para a dureza na água. Osmose reversa e troca iônica reduzem o magnésio e sua dureza associada a níveis aceitáveis (APHA 1999).

O magnésio é quimicamente muito ativo. Combina-se com a maioria dos metais e com quase todos os ácidos, exceto o crômico e o fluorídrico em estado puro. Reage pouco com álcalis e compostos orgânicos. Como catalisador, ativa reações orgânicas de condensação, redução, adição e desalogenação. As ligas de magnésio, sobretudo com o alumínio, manganês, zircônio, zinco e lantanídeos, têm especial aplicação na fabricação de fuselagens, motores e rodas na indústria aeronáutica. O magnésio, potente redutor, é empregado também, em síntese química, na obtenção de titânio, berílio e urânio (APHA 1999).

No Brasil, há jazidas de magnesita (MgCO₃) no Ceará (Orós e Cariús) e na Bahia (Brumados). Junto com o potássio, é encontrado em abundância na bacia salífera de Sergipe. Grandes reservas de dolomita ocorrem no Paraná e em São Paulo (APHA 1999).

3.8 Nitrogênio

3.8.1 Ocorrência e significância

As formas de nitrogênio de maior interesse em águas e águas residuárias em ordem decrescente no estado de oxidação são: nitrato, nitrito, amônia e nitrogênio orgânico. Todas essas formas de nitrogênio, inclusive o gás N₂, são formas intermutáveis e são componentes do ciclo do nitrogênio.

Nitrogênio orgânico é definido funcionalmente por ligações de nitrogênio no estado de oxidação tri negativo. Isto não inclui todos os compostos de nitrogênio orgânicos. Analiticamente, nitrogênio orgânico e amônia podem ser determinados juntos e tem sido referidos como “Nitrogênio Kjeldhal”, um termo que reflete a técnica usada em sua determinação. Nitrogênio orgânico inclui tanto materiais naturais como também peptídeos e proteínas, ácidos nucleicos e vários materiais orgânicos sintéticos. Concentrações de nitrogênio orgânico variam de algumas centenas de microgramas por litro em alguns lagos para até mais do que 20 mg L⁻¹ em esgoto bruto (APHA, 1999).

Amônia está presente naturalmente em águas residuárias. É largamente produzida pela desaminação de compostos orgânicos nitrogenados e pela hidrólise da ureia. Concentrações de amônia encontradas em água variam de 10 L⁻¹ em águas naturais e subterrâneas para até mais de 30 mg L⁻¹ em águas residuárias (APHA, 1999).

3.9 Potássio

3.9.1 Ocorrência e significância

Potássio é o quarto elemento no grupo IA da tabela periódica; tem um número atômico de 19, uma massa atômica de 39,10 e valência de 1. A abundância

de potássio na crosta terrestre é de 1,84%; em solos varia entre 0,1 a 2,6%; em córregos é de 2,3 mg L⁻¹ e em águas subterrâneas tem uma gama entre 0,5 a 10 mg L⁻¹. Potássio é comumente associado com aluminossilicato como feldspato. Potássio é utilizado em vidros, fertilizantes, fermento em pó, explosivos, galvanoplastia e pigmentos. Potássio é um elemento essencial tanto para nutrição de plantas como de humanos e ocorre em águas subterrâneas decorrente de dissolução mineral, da decomposição de materiais vegetais e escoamento agrícola (APHA 1999).

3.10 Zinco

3.10.1 Ocorrência e significância

Zinco é o primeiro elemento do grupo IIB na tabela periódica, e tem um número atômico de 30, uma massa atômica de 65,38 e uma valência de 2. A abundância média de Zn na crosta terrestre é 76 µg kg⁻¹; em solos é de 25 a 68 µg kg⁻¹; em cursos d'água é de 20 µg L⁻¹, e em águas subterrâneas é menor de 0,1 g L⁻¹. Zinco é utilizado em um número de ligas de bronze, em baterias, fungicidas e pigmentos. Zinco é um elemento essencial para crescimento de plantas e animais, mas em níveis elevados é tóxico para algumas espécies de vida aquática. Segundo a U.S. EPA, o nível máximo de contaminação (MCL) é de 5 mg L⁻¹ (APHA, 1999).

4 VALIDAÇÃO

Validar em análise química é estar com o objetivo voltado para a confiabilidade analítica do laboratório e do método escolhido ou desenvolvido para se obter o resultado (LEITE, 2002).

Hoje, várias normas, tanto nacionais quanto internacionais, e também os sistemas da qualidade denotam destaque no tocante à importância da

validação de métodos analíticos e a documentação do trabalho de validação, para a obtenção de resultados confiáveis e adequados ao uso pretendido.

A validação de metodologia analítica é um aspecto bastante importante e vital para a garantia da qualidade analítica e se constitui numa das exigências das normas de Boas Práticas de Laboratório (BPL) vigentes (LEITE, 2002).

A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar algumas características de desempenho, tais como: seletividade, linearidade, intervalo de aplicação, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez adequados à análise (INMETRO, 2010).

Como se pode observar, não há um procedimento de validação normalizado, mas órgãos como ICH, IUPAC, ISO, ANVISA, INMETRO orientam o item “validação de métodos analíticos” como um requisito fundamental no credenciamento para qualidade assegurada e demonstração de competência técnica. Como estes organismos são responsáveis por acompanhar e credenciar a competência de laboratórios de ensaios é importante ressaltar que as diferentes terminologias e até algumas características de desempenho do método têm, em sua maior parte, o mesmo significado, porém descrito de uma maneira distinta, para aplicações diferentes (RIBANI, 2004).

4.1 Figuras de mérito

Figuras de mérito são indicadores quantitativos do objetivo e do bom desempenho das técnicas. Alguns dos parâmetros de validação de métodos analíticos realizados neste trabalho foram: linearidade de resposta, curva analítica, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão.

4.1.1 Curva analítica

O gráfico analítico deve apresentar os dados estatísticos de intersecção, da equação da regressão linear, o coeficiente de correlação ou de determinação e a concentração estimada dos calibradores (soluções-padrão). Assim, torna-se necessário o uso de número suficiente de soluções-padrão para definir adequadamente a relação entre a concentração e a resposta. O gráfico analítico pode ser construído usando-se, no mínimo, cinco valores de concentração enquadrados no intervalo definido (Brito *et. al.*, 2003).

4.1.2 Linearidade de resposta

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada. Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico, que não deve ser estatisticamente diferente de 1 (avaliado pelo teste “t” de Student), observando-se que a inclinação da reta seja diferente de zero. Assim, é necessário obter coeficiente de correlação estatisticamente igual a um e coeficiente angular diferente de zero (Brito *et. al.*, 2003).

Os pontos para obtenção da curva devem objetivar uma variação de 20% em torno do valor estimado para a substância a ser determinada. O número de pontos da curva de resposta deve ser de, no mínimo, 5 (Leite, 2002).

A equação da reta é definida por: $y = ax + b$

Onde:

y = sinal analítico ou resposta medida

x = concentração do analito, variável independente

a = coeficiente angular – expressa a inclinação da curva os eixos

b = coeficiente linear – expressa a intersecção da curva aos eixos

4.1.3 Sensibilidade

A sensibilidade é a capacidade do método em distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas. Sob o ponto de vista prático, a sensibilidade constitui o coeficiente angular do gráfico analítico expresso como:

$$S = \frac{d\gamma}{d\chi}$$

Em métodos sensíveis, uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido. Esse critério expressa a capacidade do procedimento analítico gerar variação no valor da propriedade monitorada ou medida, causada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito (Brito *et. al.*, 2003).

4.1.4 Seletividade

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (Ribani, 2004).

Experimentos para avaliação da seletividade descritos na literatura sobre validação de métodos analíticos envolvem ensaios com padrões ou materiais de referência, amostras com e sem o analito, além da avaliação da capacidade de identificação do analito de interesse na presença de interferentes. Quando não há disponibilidade de interferentes, alguns autores sugerem a avaliação da habilidade de medição do analito por diferentes métodos, técnicas ou por meio de variações nas condições instrumentais (INMETRO, 2010).

Se a seletividade não for assegurada, a linearidade e a precisão estarão seriamente comprometidas (INMETRO, 2010).

4.1.5 Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental (INMETRO, 2010).

O método baseado em parâmetros da curva analítica, o limite de detecção (LD) pode ser calculado, segundo a equação (INMETRO, 2010):

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S}$$

Onde:

s = estimativa desvio-padrão da resposta

S = inclinação ou coeficiente angular da curva analítica

4.1.6 Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em análise que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental (INMETRO, 2010).

Os critérios adotados para cálculos do LQ podem ser realizados utilizando-se a relação sinal-ruído ou a relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta (s) e a inclinação da curva analítica (S), em níveis próximos ao LQ, segundo a equação (INMETRO, 2010):

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S}$$

4.1.7 Exatidão

A exatidão do método é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (tendência) (INMETRO, 2010).

4.1.8 Comparação de métodos

Consiste na comparação dos resultados obtidos utilizando um método interno com os resultados conseguidos através de um método de referência. O objetivo é de estudar o grau de proximidade dos resultados obtidos pelos dois métodos de ensaio, ou seja, de avaliar a exatidão do método interno relativamente ao de referência (INMETRO, 2010).

4.1.9 Precisão

Precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. É normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e as duas formas mais comuns de expressá-la são por meio da **repetitividade** e da **reprodutibilidade**, sendo usualmente expressa pelo desvio-padrão. A **repetitividade** pode ser expressa quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados e pode ser determinada por meio da análise de padrões, material de referência ou adição do analito a branco da amostra, em várias concentrações na faixa de trabalho. A **reprodutibilidade** é quando um laboratório busca a verificação do desempenho dos seus métodos em relação aos dados de validação obtidos por meio de comparação interlaboratorial (INMETRO, 2010).

Normalmente, a precisão é avaliada em termos de desvio-padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR), conhecida como coeficiente de variação (CV), é expressa pela equação:

$$CV\% = \left(\frac{s}{\bar{x}} \right) \times 100$$

Onde:

\bar{x} = média aritmética das medições;

s = desvio-padrão das medições;

4.1.10 Comparação da precisão entre métodos

Quando se pretende avaliar se dois métodos (A e B) tem diferenças significativas entre si, em termos de precisão, pode-se recorrer ao teste F. Este baseia-se no cálculo da razão entre as variâncias dos dois métodos, colocando-se a maior no numerador, de modo que a razão seja maior ou igual a um. Em seguida, compara-se este valor obtido com o valor tabelado de F. Se $F_{\text{calculado}} \leq F_{\text{tabelado}}$, os dois métodos não apresentam diferenças significativas entre si, relativamente às suas precisões (INMETRO, 2010).

4.1.11 Recuperação

A recuperação do analito pode ser estimada pela determinação de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo (spike). As amostras podem ser adicionadas com o analito em pelo menos três diferentes concentrações, por exemplo, próximo ao limite de detecção, próximo à concentração máxima permissível e em uma concentração próxima à média da faixa de uso do método (INMETRO, 2010).

A recuperação pode ser calculada como:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Onde:

C1 = concentração do analito na amostra fortificada;

C2 = concentração do analito na amostra não fortificada,

C3 = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

5 METODOLOGIA

5.1 Coleta de amostras

As amostras de lodo foram coletadas na Estação de Tratamento de Esgoto Monjolinho de São Carlos – SP. A amostra foi composta por 20 frascos de um litro de esgoto retiradas do reator anaeróbico (UASB) durante uma semana, compondo assim uma amostra de 20 L na fase líquida.

Para estabilização das amostras e redução de patógenos, utilizou-se o método de secagem em leitos de polipropileno. A secagem foi realizada apenas por radiação solar durante cinco dias aproximadamente. Aplicou-se então, uma camada de 3 mm de espessura para secagem apropriada do lodo até obter-se uma camada fina e seca da amostra (CONAMA, 2006).

5.2 Preparação da amostra

A caracterização físico-química do biossólido foi realizada com a massa seca do lodo de esgoto, para tal, fez-se a desidratação em leitos de secagem por radiação solar, logo após, a amostra foi triturada com pistilo e almofariz de porcelana e peneirada em malha 250 µm e acondicionada em frascos de vidro devidamente fechados para análises posteriores (CONAMA, 2006).

5.3 Caracterização físico-química

5.4 Umidade a 65°C e 110°C

Para determinar a umidade, pesou-se 5g da amostra *in natura* em um cadinho de porcelana tarado. Colocou-se em estufa a 65 °C por 24 h, retirou-se a amostra da estufa e a colocou-se essa amostra em um dessecador até a

temperatura ambiente para nova medição da massa. A porcentagem de umidade foi calculada conforme a seguinte fórmula:

$$\%U_{(65^{\circ}\text{C})} = 100 (p-p_1)/p;$$

Onde:

p = massa da amostra *in natura*

p_1 = massa da amostra seca à 65°C

Para determinação do biossólido a 110°C, desidratou-se a amostra à 65°C, foi novamente quantificada e colocada em estufa a 110°C por 24 horas. Após esse período, colocou-se essa amostra em um dessecador até obter-se massa constante.

Determinou-se a umidade segundo a fórmula:

$$\%U_{(110^{\circ}\text{C})} = (100-\%U_{(65^{\circ}\text{C})}) * U/p_1;$$

Onde:

$U = p_1 - p_2$

p_2 = massa da amostra seca a 110°C

Determinou-se o teor de umidade total, somaram-se os teores de umidade perdidas a 65°C e a 110°C (BIGHAM, 1996).

5.5 Determinação de pH

Para determinação de pH do lodo, utilizou-se o lodo seco, representado pela secagem em leito e posterior desidratação em estufa a 100°C durante 24h. A determinação do pH foi realizada adicionando-se 25 mL de cloreto de cálcio (0,01

mol L⁻¹) em uma amostra de 10 g, colocou-se em um agitador orbital durante 30 minutos e realizou-se a medição da suspensão (CLAESSEN, 1997).

5.6 Teor de matéria orgânica e cinza

5.7 Teor de matéria orgânica

Para a determinação do teor de matéria orgânica utilizou-se a amostra do biossólido previamente seca a 65°C e triturada com pistilo e almofariz. Então, pesaram-se 2 g do lodo de esgoto e submeteu-a à calcinação em mufla à 550°C por 4 horas (ALLISON, 1965). Após isso, resfriou-se a amostra até a temperatura ambiente em um dessecador. Assim, toda a matéria orgânica é carbonizada, restando apenas a matéria inorgânica, conforme a equação:

$$\%MO = (Ps - Pm/Ps)*100;$$

Onde:

%MO = matéria orgânica em porcentagem

Ps = massa inicial

Pm = massa final

5.8 Teor de cinza

A determinação do teor de cinza é realizado conforme a seguinte equação:

$$\% \text{ cinza total} = (Pm/Ps)*100$$

5.9 Carbono total

Para determinação do carbono orgânico total foi utilizado o analisador de carbono total, modelo TOC-VCPH, acoplado ao módulo de amostras sólidas, modelo SSM-5000A, marca SHIMADZU com detector de combustão. A curva analítica foi

construída com o padrão biftalato de potássio para determinar o carbono orgânico total. Para determinação pesou-se 100 mg de amostras do biossólido devidamente secas à 60°C durante 24 horas e trituradas com almofariz e pistilo.

5.10 Determinação dos teores de nitrogênio e fósforo

As concentrações de nitrogênio e fósforo foram determinadas por espectrofotometria no aparelho Hach modelo DR/2500, segundo o método do reagente de Nessler e o método vanadato-molibdato, respectivamente. Realizou-se a digestão ácida das amostras do biossólido conforme item 5.7.2.1.

5.11 Determinação do TKN segundo o método 8075 do espectrofotômetro

Hach (*Cotta et. all* , 2007)

O termo TKN refere-se à combinação de nitrogênio na forma orgânica e amônia, somente os compostos de nitrogênio orgânico que aparecem como nitrogênio ligado organicamente no estado tri-negativo são analisados. Nitrogênio nesta forma é convertido em sais de amônio pela ação de ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio. A amônia é analisada pelo método teste de Nessler modificado (método 8075) do espectrofotômetro, modelo DR/2500, marca Hach . Os resultados do teste são mensurados em 460 nm.

Em uma proveta de 25 mL adicionaram-se 5,0 mL da amostra, adicionou-se uma gota de indicador TKN (ácido propiônico), gotas de KOH até a solução ficar azul, completou-se com água destilada até 20 mL, adicionaram-se três gotas de estabilizador mineral (citrato de sódio e tartarato de sódio potássico), homogeneizou-se, adicionaram-se três gotas de álcool polivinílico, homogeneizou-se novamente e completou-se a 25 mL com água destilada, adicionou-se uma gota de reagente de Nessler e homogeneizou-se. Após dois

minutos fez-se a leitura no programa selecionado do espectrofotômetro em 460 nm. Seguiu-se o mesmo procedimento para o branco, incluindo o mesmo processo de digestão sem a amostra. Para obter a quantidade de TKN, segundo o método Hach, nas amostras fizeram-se os seguintes cálculos:

$$C \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{75 \times A}{B \times D},$$

onde,

A: valor obtido no aparelho (mg L⁻¹)

B: massa da amostra (g)

C: Concentração de TKN (mg L⁻¹)

D: volume da amostra utilizado para análise (mL)

5.12 Determinação colorimétrica de fósforo

5.13 Preparo da amostra para determinação de fosfato – Método 3550 (APHA, 1999)

Colocou-se 0,5 g de amostra seca e triturada em um frasco rotulado, específico para aquecimento em bloco digestor Hach, marca Digesdahl, cuja temperatura atingiu cerca de 300^oC. O frasco foi introduzido no bloco digestor e coberto com um funil apropriado; Adicionaram-se 10mL de H₂SO₄ concentrado (~98%) através do funil e deixou-se em repouso durante 15 min. Foi adicionado vagorosamente 4mL de peróxido de hidrogênio (30%) através do funil, desligou-se o aquecimento e esperou-se a amostra esfriar até à temperatura ambiente e observou-se o aspecto visual, o qual deveria ser límpido. Filtrou-se a amostra usando papel de filtro apropriado e funil convencional (antes de iniciar a filtração da amostra, deve-se

adicionar pequeno volume de solução de ácido nítrico a 10%, seguida de pequeno volume de água destilada, a fim de evitar possíveis contaminações.

Recolheram-se em um balão volumétrico de 100 mL (devem ser adicionados pequenos volumes de água Milli-Q ao frasco usado na digestão, de modo que toda a amostra fosse transferida para o filtro) e completou-se o volume do balão volumétrico com água Milli-Q. Transferiu-se o conteúdo do balão para um frasco âmbar de 100 mL rotulado. Conservou-se em geladeira à 4°C até que fossem realizadas as determinações.

5.14 Determinação de fosfato – Método 4500 (APHA, 1999)

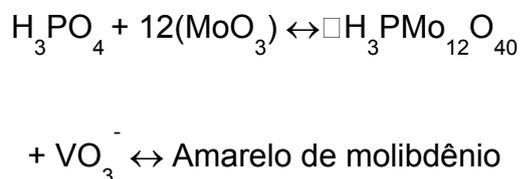
Sugere-se que a curva seja feita, no máximo, a cada 6 meses, ou quando houver um novo lote de reagentes. Antes de se proceder à leitura, deve-se selecionar a opção absorvância “Abs” na tela do equipamento, para que o resultado seja dado em absorvância

Transferiu-se, com uma pipeta, 1 mL de amostra digerida, conforme item **5.13**, para uma proveta de 25 mL provida de tampa e adicione, com uma pipeta, 3 mL da solução de vanadato-molibdato ao conteúdo da proveta (o branco é preparado da mesma maneira, porém usa-se água milli-Q ao invés da amostra digerida). Complete o volume para 25 mL com água destilada, Tampou-se a proveta e procedeu-se a agitação. Esperou-se 10 minutos para completar a reação e transferiu-se o conteúdo para uma cubeta com tampa (específica para o espectrofotômetro em questão). Primeiro deve-se introduzir a cubeta com “branco” no equipamento. Zerou-se a leitura a fim de impor absorvância igual a zero para o “branco”. Retirou-se a cubeta com o branco e introduza a cubeta contendo a amostra.

Pela equação da reta analítica de Abs vs. $[PO_4^{3-}]$, calculou-se a concentração de PO_4^{3-} em $mg L^{-1}$, levando-se em conta a diluição.

5.15 Preparo da Solução de vanadato-molibdato

Dissolveram-se 12,5g de molibdato de amônio tetraidratado em 150 mL de água destilada (solução A), dissolver 0,625g de metavanadato de amônio em 150mL de água destilada recém fervida. Resfriar e adicionar 165 mL de ácido clorídrico concentrado (~70%), deixar esfriar até a temperatura ambiente (solução B);



5.16 Determinação de elementos por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente - ICP/OES

Para determinação multielementar de elementos por espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente utilizou-se um espectrômetro marca/modelo Optima 3100Dv do laboratório de espectrometria no bloco Q1 do IQSC, USP no campus São Carlos.

5.17 Digestão das amostras

As amostras previamente secas em estufa a 65°C por 24h e trituradas com pistilo de almofariz, foram digeridas em triplicata, segundo o método EPA 3050B, na qual adicionaram-se a 1 g de amostra, 15 mL de ácido nítrico 65%(P.A.) durante 3 horas e em seguida 5 mL de peróxido de hidrogênio 29% e esperou-se durante uma hora até digestão completa da amostra. Após isso, as amostras foram filtradas e transferidas para um balão volumétrico de 100 mL acrescidas de água purificada

segundo o sistema Millipore. O branco foi realizado utilizando-se as mesmas condições acima, porém sem adição da amostra na digestão. Para a construção da curva analítica, uma solução padrão de concentração dos metais em seis pontos com intervalo de concentração entre 0,5 e 100 mg L⁻¹ foram inseridas.

5.18 Determinação colorimétrica de metais

A determinação colorimétrica de elementos foi efetuada pelo espectrofotômetro da marca HACH modelo DR/2500.

5.19 Preparo das amostras

As amostras previamente secas em estufa a 65°C por 24h e trituradas com pistilo de almofariz, foram digeridas conforme item **5.17**, em triplicata, segundo o método EPA 3050B.

5.20 Limpeza do material utilizado

Toda vidraria foi limpa com detergente Extran neutro, enxaguadas com água de torneira, e posteriormente postas em solução de ácido nítrico a 50% v/v e mantidas por algumas horas nessas condições. Então, foram enxaguadas com água desionizada e secas em estufa (vidraria não volumétrica).

5.21 Interferentes

Todas as análises foram realizadas considerando-se o grau de interferentes presentes nas amostras conforme tabelas estabelecidas para cada método. Para tanto, utilizaram-se diluições e correções de pH, quando necessário, para eliminar esses possíveis interferentes na amostra durante as determinações.

5.22 Determinação colorimétrica de cromo total

5.22.1 Resumo do método de oxidação alcalina pelo hipobromito

Cromo trivalente na amostra é oxidado para a forma hexavalente pelo íon hipobromito em condições alcalinas. A amostra é então acidificada e o teor de cromo total é determinado pelo método 1,5-difenilcarbazida. Os resultados dos testes foram medidos a 540 nm.

5.22.2 Interferentes

Para determinação colorimétrica de cromo total, observou-se os limites de substâncias interferentes e seus devidos tratamentos conforme tabela a seguir.

Tabela 2 – Substâncias interferentes para cromo total

Substâncias interferentes	Níveis de interferência e tratamentos
Matéria orgânica	Deve inibir a oxidação completa do cromo trivalente, se altos níveis de matéria orgânica estão presentes,.
Acidez	Ajustar o pH para 4 com hidróxido de sódio antes da análise.

5.22.3 Procedimento

Preencheu-se um frasco com 25 mL de amostra. Adicionou-se então um envelope do reagente Chromium 1 (Esta é a **amostra preparada**). Tampou-se e inverteu para misturar.

Removeu-se a tampa e colocou a amostra preparada em um banho de água fervente, e aguardou-se um período de reação de cinco minutos. Após isso,

utilizando água corrente, resfriou-se o frasco até 25 °C. Certificou-se que a tampa estivesse bem apertada. Então, adicionou-se o conteúdo de um envelope do reagente Chromium 2. Inverteu-se para misturar. Adicionou-se o conteúdo de um envelope do reagente Acid Reagent. Tampou e inverteu para misturar; adicionou-se o conteúdo de um envelope do reagente ChromaVer 3. Inverteu para misturar e aguardou-se um período de reação de 5 minutos. Preencheu-se outro frasco com 25 mL da amostra de água deionizada(o branco). Colocou-se o branco dentro do equipamento e zerou-se o mostrador para 0,000 Abs. Enfim, colocou-se amostra preparada dentro do compartimento de leitura. Leu-se o resultado em absorvância.

5.23 Determinação colorimétrica de zinco

5.23.1 Resumo do método Zincon

Zinco e outros metais em amostras são complexados com cianeto. A adição de ciclohexanona causa uma liberação seletiva de zinco. O zinco então reage com o indicador 2-carboxi-2'-hidroxi-5'-sulfoformazil benzeno (Zincon) para formar uma espécie colorida azul. A intensidade de cor azul é proporcional ao total de zinco presente. Os resultados do teste são mensurados em 620 nm.

5.23.2 Interferentes

Para determinação colorimétrica de zinco, observou-se os limites de substâncias interferentes e seus devidos tratamentos conforme tabela 3.

Tabela 3 - Substâncias interferentes para zinco

Substâncias interferentes	Níveis de interferência e tratamentos
Alumínio	Maior do que 6 mg L ⁻¹
Cádmio	Maior do que 0,5 mg L ⁻¹

Cobre	Maior do que 5 mg L ⁻¹
Níquel	Maior do que 5 mg L ⁻¹
Acidez	Ajustar o pH para 4 a 5 com hidróxido de sódio 5 Mol L ⁻¹ antes da análise, não ultrapassar o pH 5, pois o zinco deve precipitar. Corrigir os resultados dos testes pela adição de volume.

5.23.3 Procedimento

Transferiram-se 20 mL de amostra em uma proveta de 25 mL. Adicionaram-se então um envelope do reagente ZincoVer 5 na proveta. Inverteu-a diversas vezes para misturar. Se todas as partículas não estiverem dissolvidas, deverá resultar em erros de leitura com baixas concentrações de zinco.

Nota: A amostra deverá ser laranja. Se a amostra estiver marrom ou azul, ou a concentração de zinco estiver muito alta, ou outro elemento interferente estiver presente. Deve-se diluir a amostra e repetir o teste.

Colocaram-se 10 mL de solução em uma cubeta (este é o **branco**)

Usou-se um gotejador plástico graduado e adicionou-se 0,5 mL de ciclohexanona para a solução restante na proveta graduada e tampou-a.

Aguardou-se um período de reação de 30 segundos. Durante o tempo de reação agitou-se vigorosamente a proveta (**amostra preparada**)

Aguardou-se um período de reação de 3 minutos. Durante este período, colocou-se a solução da proveta graduada em uma cubeta (Esta é a **amostra preparada**)

Após o tempo de reação, colocou-a no espectrofotômetro. Zerou-se o mostrador para exibir 0,000 Abs. Então, colocou-se a amostra preparada no equipamento. Leu-se o resultado em absorbância.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização das amostras de lodo

Os resultados de caracterização das amostras de lodo seco ao ar estão descritos na tabela 4, os valores representam a média de resultados de 3 análises.

Tabela 4 - Caracterização físico-química de amostras de lodo

PARÂMETRO	RESULTADO	
pH	6,23	±0,06
Umidade 110°C (%)	6,58	±0,06
Umidade 65°C (%)	5,05	±0,17
Teor de MO (%)	55,68	±0,10
Carbono Total mg kg ⁻¹	287,2	±4,32
Nitrogênio Kjeldhal mg kg ⁻¹	1089	±8,18

Segundo Korentajer (1991), o transporte dos elementos tóxicos quando o lodo de esgoto é adicionado ao solo via cadeia alimentar é mínimo quando o pH do solo é mantido em valor igual ou superior a 6,5, podendo ser um problema nos países de clima tropical onde o solo tem um pH normalmente abaixo de 6. O pH do lodo da ETE-Monjolinho está numa faixa de 6,3 o que é um indicativo de não alteração das características do solo em caso de aplicação do mesmo.

A concentração máxima de carbono total encontrada no lodo de esgoto foi de 287,2 mg L⁻¹, resultado este que confirma a alta concentração de compostos orgânicos no lodo provenientes da degradação da matéria orgânica durante o

processo biológico, contribuindo assim como um biossólido com alto teor agrônômico.

6.1.1 Concentração de elementos no lodo de esgoto ETE-Monjolinho

Os resultados obtidos por ICP-OES estão apresentados na tabela 5. Os valores representam a média de 3 determinações.

Tabela 5 - Concentração de elementos no lodo de esgoto da ETE - Monjolinho

Elemento	mg kg ⁻¹	CONAMA 375-2006 VMP (mg kg ⁻¹)
Cd	12,97	39
Cr	189,1	1.000
Ca	17.830	-
Cu	584,9	1.500
K	2.053,3	-
Mg	2.719,3	--
Ni	ND	420
P	400	-
Pb	167,6	300
Zn	1.549,0	2.800

Observando-se o lodo de esgoto da ETE-Monjolinho do município de São Carlos, nota-se que todos os elementos estão abaixo dos valores máximos permitidos em referência à resolução CONAMA 375.

6.2 Validação

6.2.1 Validação do método para determinação de cromo

A curva analítica do método foi construída com soluções-padrão em água desionizada, nas concentrações de 0,01, 0,05, 0,1, 0,35 e 0,6 mg L⁻¹, conforme figura 1.

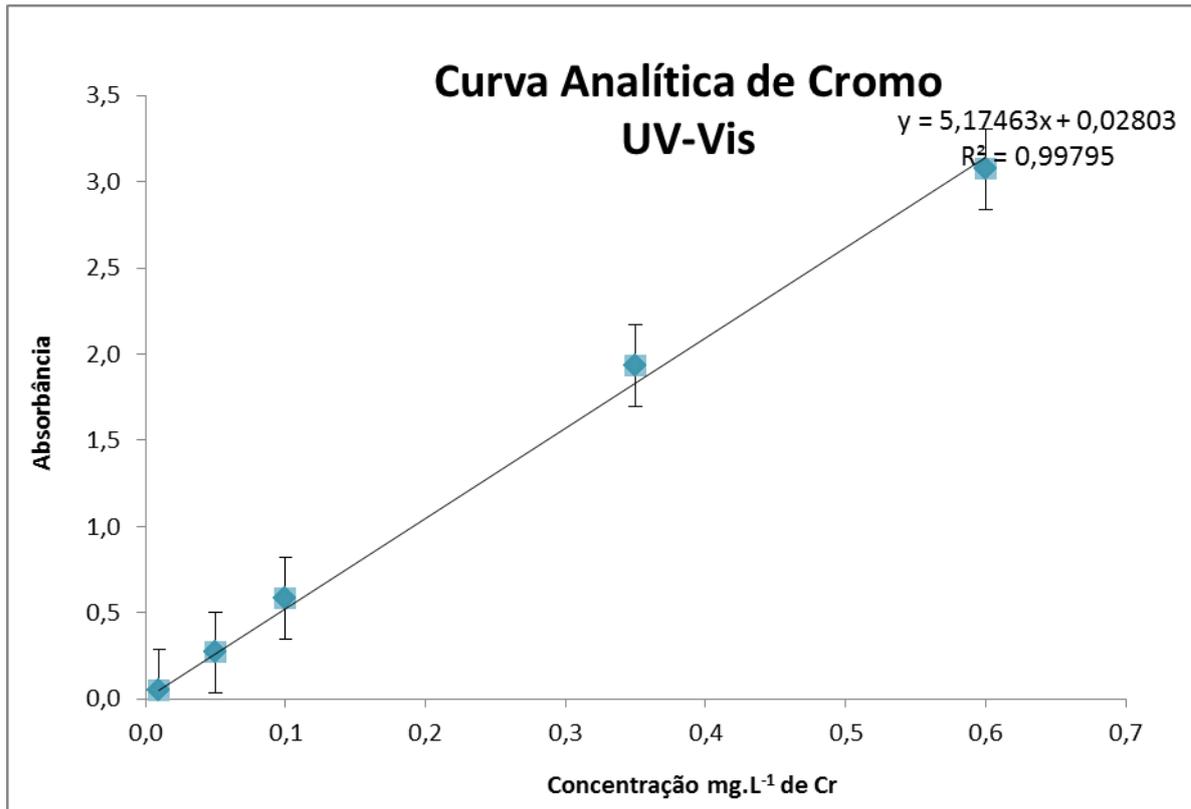


Figura 1 – Curva analítica para determinação de cromo por UV-Vis

O resultado foi calculado considerando-se ainda, as diluições realizadas na amostra, conforme a equação da curva analítica a seguir:

$$y = 5,17463x + 0,02803;$$

6.2.1.1 Linearidade e sensibilidade

A linearidade da curva obtida (figura 1) representa em proporção direta as concentrações da substância em estudo, pois os coeficientes de correlação e determinação, respectivamente, foram $r=0,99$ e $r^2= 0,99$.

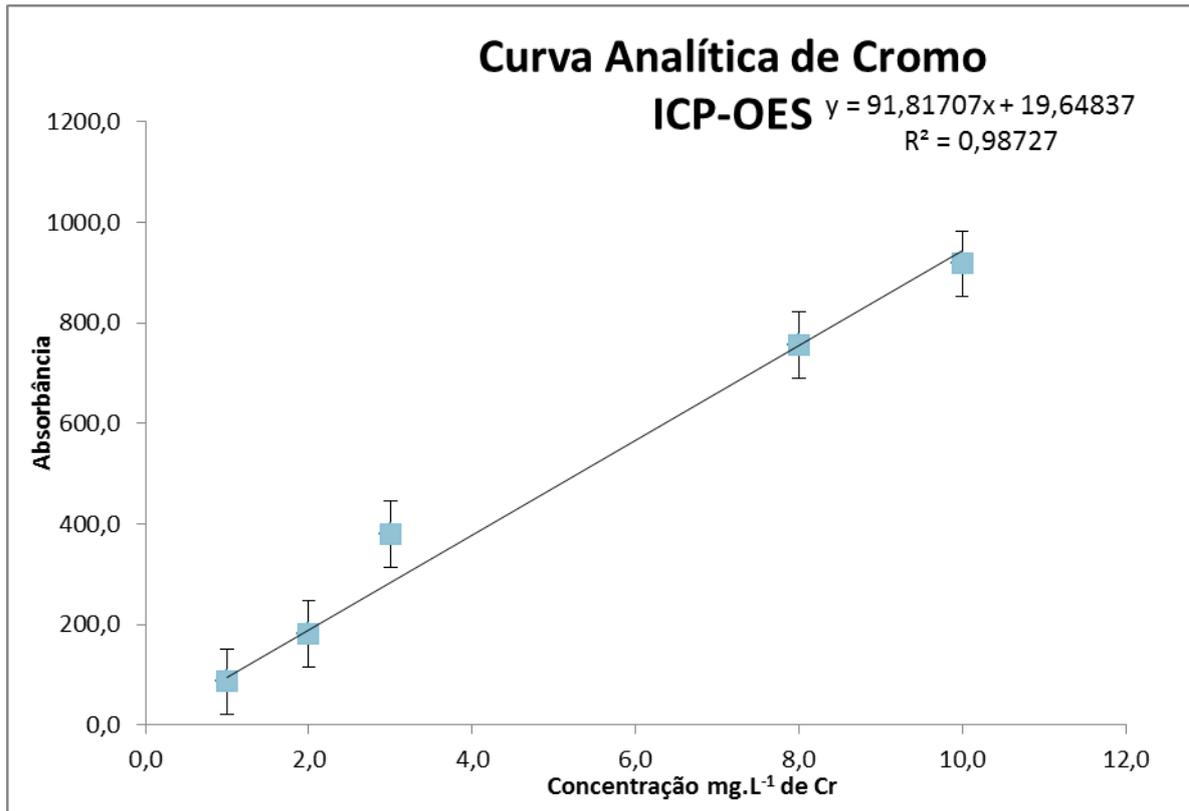


Figura 2 - Curva analítica para determinação de Cr por ICP – OES

A sensibilidade do método conforme equação $y = ax + b$, onde a =sensibilidade, na concentração de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ encontrou-se 3,07 absorbância no espectrofotômetro UV-Vis, que é bem menos sensível em relação ao método ICP-OES (figura 2) que resultou um valor de 51,6 absorbância de mesma concentração.

6.2.1.2 Seletividade

O método de adição padrão foi utilizado para o parâmetro de seletividade, pois não foi possível obter a matriz do lodo de esgoto isenta da substância de interesse. Neste caso foi feita uma curva analítica com adição da substância de interesse na amostra e comparada com uma curva analítica sem a presença da matriz (RIBANI, 2004).

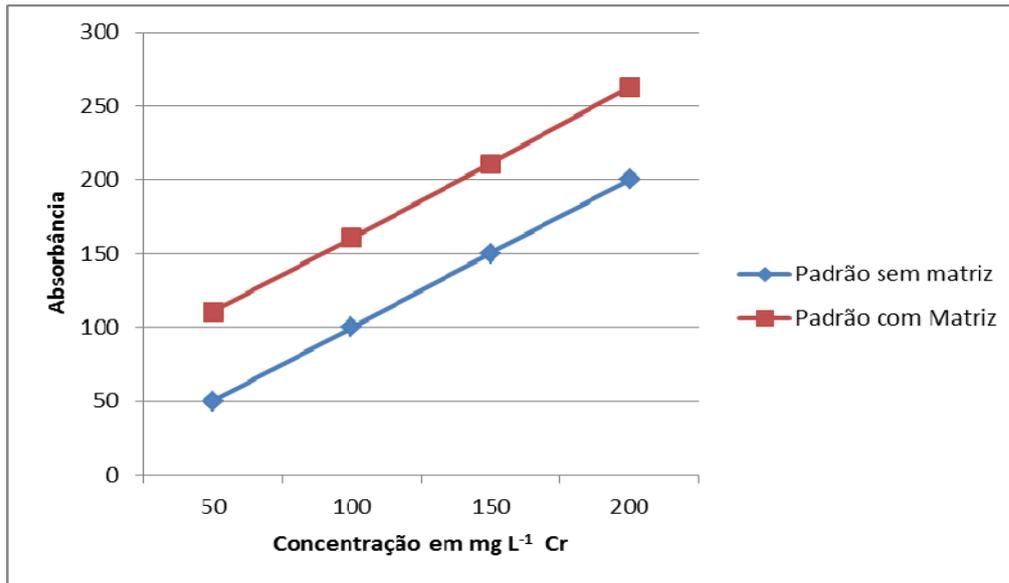


Figura 3 –Curvas para determinação seletividade de Cr por espectrofotometria UV/Vis

Comparam-se, então, as duas curvas analíticas da figura 7 e como estavam paralelas, pôde-se dizer que não houve interferência da matriz na determinação da substância de interesse, portanto, o método é seletivo nas condições testadas.

6.2.1.3 Limite de detecção

O limite de detecção foi calculado pelo método baseado em parâmetros da curva analítica descritos na tabela 6 (RIBANI, 2004).

Tabela 6 - - Desvio padrão da curva analítica de cromo por UV/Vis

Concentração*	Absorbância (n=5)	s (amostra)*	s (população)*
0,01	0,052	$1,20 \times 10^{-3}$	1,13
0,05	0,269	$1,24 \times 10^{-2}$	
0,1	0,584	$7,16 \times 10^{-3}$	
0,35	1,934	$1,52 \times 10^{-2}$	
0,6	3,073	$1,86 \times 10^{-2}$	

* (mg kg⁻¹)

O limite de detecção com limite de confiança de 95% foi determinado o valor de absorvância de 0,08, o que representa aproximadamente uma concentração de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de cromo conforme dados apresentados pela tabela 6 e figura 1.

6.2.1.4 Limite de quantificação

O limite de quantificação ficou estabelecido de acordo com parâmetros da curva analítica com limite de confiança de 95%, em que o valor calculado para o LQ foi de 0,24 absorvância, o que representa uma concentração de $0,04 \text{ mg L}^{-1}$ de cromo.

6.2.1.5 Branco do método

O branco do método foi realizado para eliminar possíveis interferentes na matriz do método, utilizando-se assim, água deionizada para composição do branco na curva analítica.

6.2.1.6 Recuperação

A recuperação do método foi realizada com adição de padrão às amostras antes da digestão pelo método 3050 (EPA), conforme tabela 7.

Tabela 7 - Tabela de recuperação do Cr pelo método adição de padrão

Amostra sem adição de padrão mg L^{-1}	Padrão adicionado mg L^{-1}	Concentração determinada mg L^{-1}	Recuperação %	s mg L^{-1}
145,00	100,0	237,00	96,37	9,30
	200	299,5	86,8	5,70
	300	405,8	91,1	7,15
	400	474,5	87,6	3,06

Comparando os resultados de recuperação, segundo a resolução CONAMA 375, estima-se que o valor de recuperação do método deve estar entre 80 a 120%, sendo que a U.S.EPA normatiza o valor na faixa entre 70 a 120%, portanto os

resultados obtidos estão de acordo com a legislação, já que se encontram dentro de níveis aceitáveis.

6.2.1.7 Exatidão

Avaliou-se a exatidão do método comparando-se o grau de proximidade entre os resultados obtidos empregando-se o método em desenvolvimento, espectrofotometria UV-Vis, e os resultados obtidos por meio de um método de referência, ICP-OES. No método em validação, observou-se que a exatidão é de 97,02%.

6.2.1.8 Precisão

6.2.1.8.1 Comparação de métodos

Para garantir a precisão do método proposto, fez-se uma comparação de resultados entre dois métodos em função da repetitividade de resultados entre as análises. Para tanto o teste F, que avalia a variância entre os métodos e o teste t, com 95% de confiança, foram calculados a partir dos resultados apresentados na tabela 8 e demonstrados na tabela 9.

Tabela 8 - Resultados estatísticos por espectrofotometria UV/Vis e ICP - OES

Amostra (g)	Método	Média*	Desvio Padrão*	Variância	CV %
0,5	Hach ¹	67,5	2,25	5,06	3,33
0,5	ICP ²	69,5	1,48	2,19	2,13

* mg kg⁻¹ de Cr ; 1 = (n=5); 2 = n(=3)

Tabela 9 - Valores calculados de F e t = 0,95 (95%)

Comparação de métodos	Test F5,2	Test t
Hach com ICP	2,31	0,69

O resultado da equação do teste F 2,31 é menor do que 19,3 (valor da distribuição F-5% probabilidade). Pode-se então afirmar que não há diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95%, o método então é preciso.

Analisando os resultados, verificou-se que o $t(\text{calc}) = 0,69$ é menor do que $t(\text{tabelado}) = 1,833$ com 95% de confiança e 9 graus de liberdade, portanto não há diferença significativa entre as médias e o método é preciso.

6.2.2 Validação do método para determinação de zinco

A curva analítica do método foi construída por meio de 5 soluções-padrão em água desionizada nas concentrações de 0,1, 0,5, 1,0 e 1,5 e 2,0 mg L⁻¹, conforme figura 4.

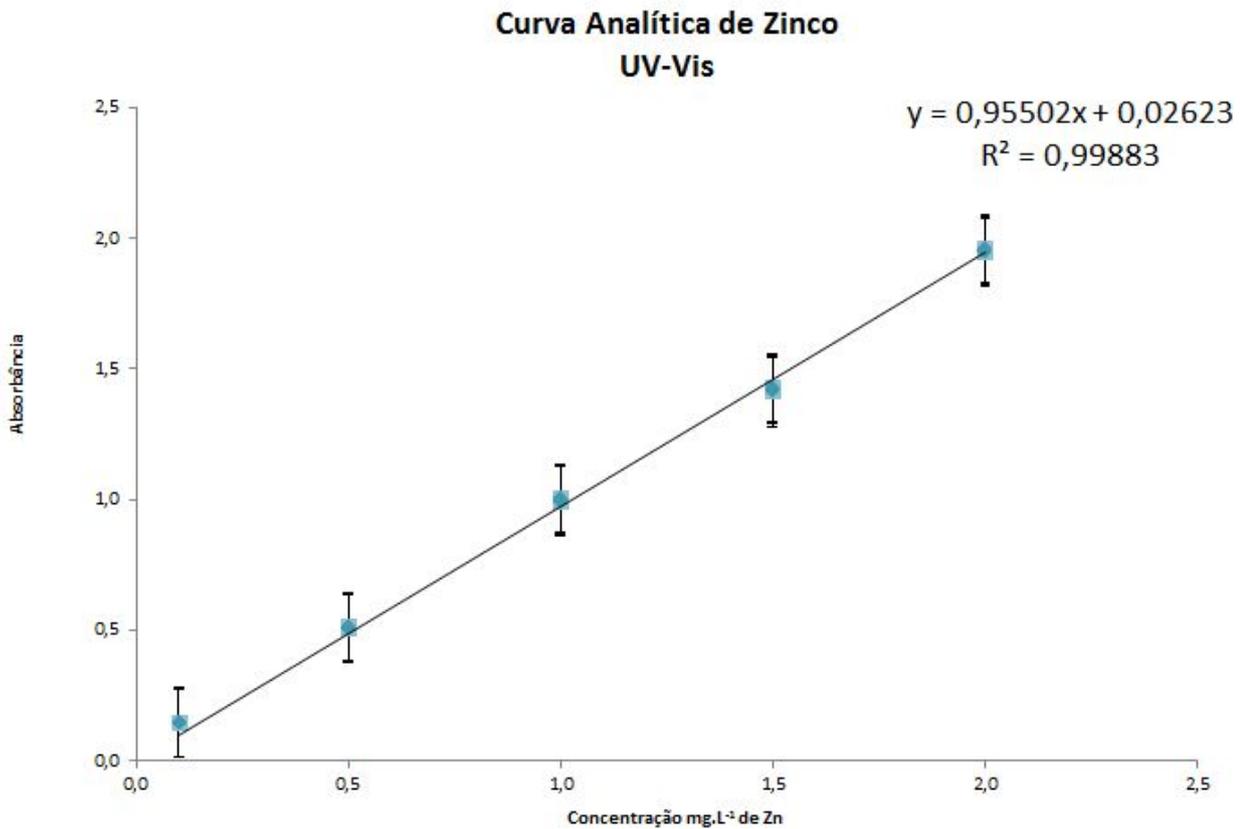


Figura 4 - Curva analítica para a determinação de Zinco por espectrofotometria UV- Vis

O resultado foi calculado conforme a equação da curva analítica a seguir:

$$y = 0,95502x + 0,02623;$$

6.2.2.1 Linearidade e sensibilidade

A linearidade da curva obtida conforme a figura 5, representa em proporção direta as concentrações da substância em estudo, corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação (RIBANI, 2004).

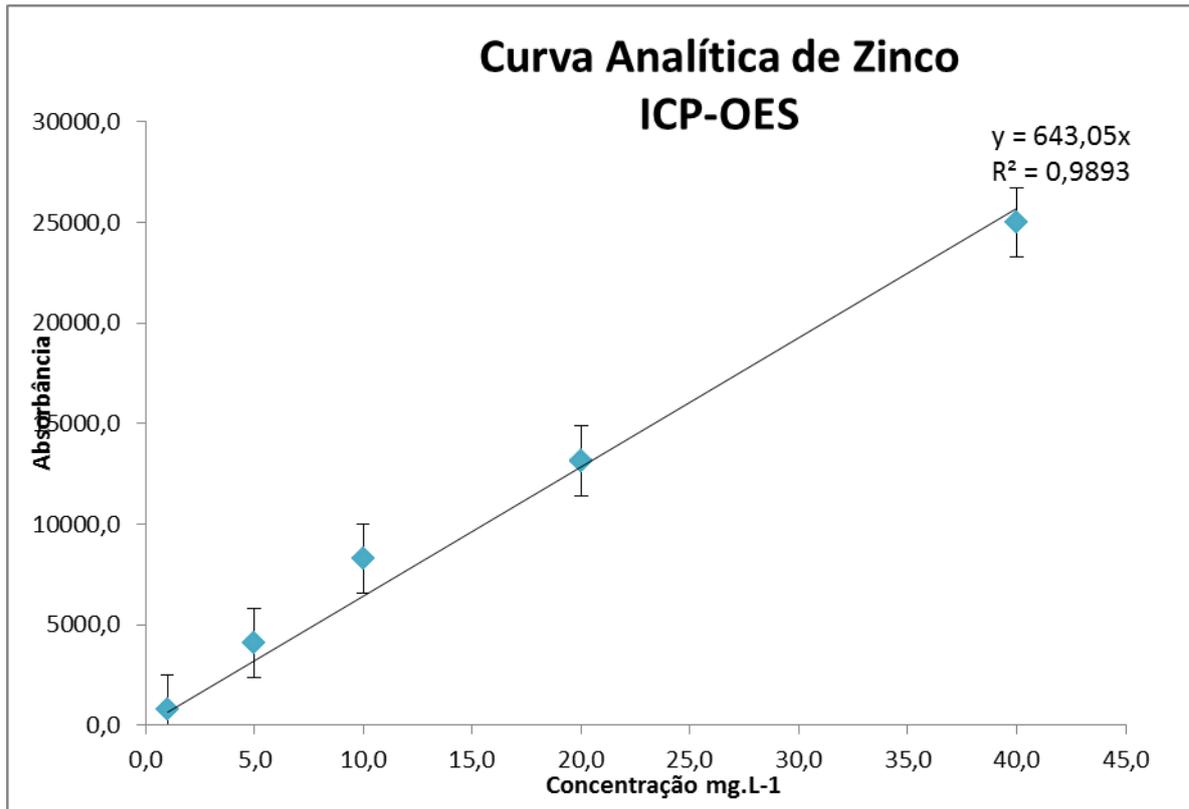


Figura 5 - Curva analítica para determinação de Zinco por ICP - OES

Os coeficientes de correlação e determinação, respectivamente, da curva foram $r=0,99941$ e $r^2= 0,99883$. Porém a sensibilidade do método conforme equação $y = ax + b$, onde a =sensibilidade, na concentração de 1 mg kg^{-1} , ficou em 0,99 unidades de absorbância, que é bem menos sensível em relação ao método ICP-OES (figura 5), que resultou um valor de 787 unidades de absorbância.

6.2.2.2 Seletividade

O método de adição padrão foi utilizado para o parâmetro de seletividade, pois não foi possível obter a matriz do lodo de esgoto isenta da substância de interesse. Neste caso foi feita uma curva analítica com adição da substância de interesse na amostra e comparada com uma curva analítica sem a presença da matriz (RIBANI, 2004).

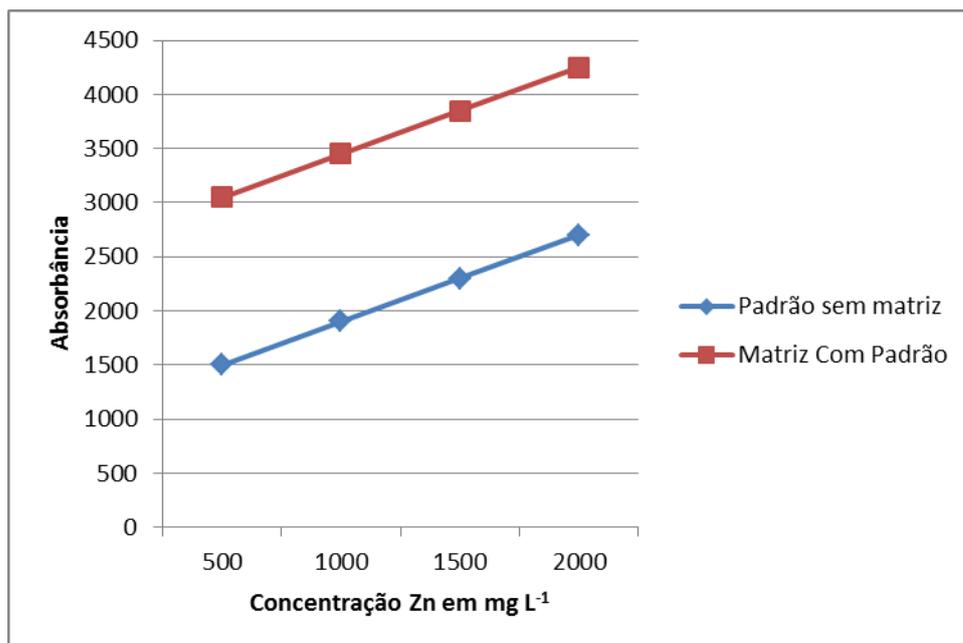


Figura 6- Curvas para determinação seletividade de Cr por espectrofotometria UV/Vis

Comparam-se, então, as duas curvas analíticas da figura 6 e como estavam paralelas, pode-se dizer que não houve interferência da matriz na determinação da substância de interesse, portanto, o método é seletivo nas condições de estudo.

6.2.2.3 Limite de detecção.

O limite de detecção foi calculado pelo método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI, 2004).

Tabela 10 - Desvio padrão da curva analítica de zinco por UV/Vis

Concentração*	Absorbância n = 5	s* (amostra)	s* (população)
0,1	0,145	3,85E-03	0,76
0,5	0,511	7,57E-03	
1	0,998	4,27E-03	
1,5	1,42	1,24E-03	
2	1,95	1,58E-02	

* (mg kg⁻¹)

O limite de detecção com limite de confiança de 95% ficou estimado em 0,113 absorbância, o que representa uma concentração de 0,09 mg L⁻¹ de zinco conforme tabela 10 e figura 8.

6.2.2.4 Limite de quantificação

O limite de quantificação ficou estabelecido de acordo com parâmetros da curva analítica com limite de confiança de 95%, em que o valor calculado para o LQ foi de 0,344 absorbância, o que representa uma concentração de 0,33 mg L⁻¹ de zinco.

6.2.2.5 Branco do método

O branco do método foi realizado para eliminar possíveis interferentes na matriz do método, utilizando-se assim, água deionizada para composição do branco na curva analítica.

6.2.2.6 Recuperação

A recuperação do método foi realizada com adição de padrão às amostras antes da digestão pelo método 3050B (EPA), conforme tabela 11.

Tabela 11 - Recuperação do Zn pelo método de adição de padrão por UV/Vis

Amostra sem adição de padrão mg kg ⁻¹	Padrão adicionado mg kg ⁻¹	Concentração final mg kg ⁻¹	Recuperação %	s mg kg ⁻¹
1564	50	1519	96,5	53,8
	100	1916	115,1	48,5
	200	2327	131,9	140,6
	400	2607	126,3	249,4

Comparando os resultados de recuperação, segundo a resolução CONAMA 375 de 2006, o valor de recuperação do método deve estar entre 80 a 120%, sendo

que a U.S.EPA normatiza o valor na faixa entre 70 a 120%, portanto os resultados obtidos, nem todos estão de acordo com a legislação, mas se encontram dentro de níveis aceitáveis.

6.2.2.7 Exatidão

Avaliou-se a exatidão do método comparando-se o grau de proximidade entre os resultados obtidos empregando-se o método em desenvolvimento, espectrofotometria UV-Vis, e os resultados obtidos por meio de um método de referência, ICP-OES. No método em validação, observou-se que a exatidão é de 91,55%.

6.2.2.8 Precisão

6.2.2.8.1 Comparação de métodos

Para garantir a precisão do método proposto, fez-se uma comparação de resultados entre dois métodos em função da repetitividade de resultados entre as análises. Para tanto o teste F, que avalia a variância entre os métodos e o teste t, com 95% de confiança, foram calculados a partir de resultados apresentados na tabela 12 e demonstrados na tabela 13.

Tabela 12 - Resultados estatísticos da determinação de Zn por espectrofotometria UV/Vis e ICP - OES

Amostra	Amostra (g)	Método	Média*	Desvio Padrão *	Variância	CV %
Lodo de esgoto	1,0	Hach ¹	1388	111,09	532,77	7,93
	1,0	ICP ²	1516	26,08	127,5	1,72

* mg kg⁻¹ de Zn ; 1 = (n=5); 2 = n(=3)

Tabela 13 - Valores calculados de F e t = 0,95 (95%)

Comparação de métodos	Test F _{5,2}	Test t
UV-Vis com ICP-OES	4,18	0,75

Analisando os resultados, verificou-se que o resultado da equação do teste F, 4,18 é menor do que 9,01 (valor da distribuição F-5% probabilidade). Pode-se então afirmar que não há diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 5%, o método então é preciso.

O $t(\text{calc}) = 0,75$ é menor do que $t(\text{tabelado}) = 1,833$ com 95% de confiança e 9 graus de liberdade, portanto não há diferença significativa entre as médias.

6.3 Métodos espectrofotométricos validados pelo LQA

O Laboratório de Química Ambiental do IQSC realizou validações da metodologia analítica por espectrofotometria UV/Vis dos elementos nitrogênio (COTTA, 2007) e fósforo, metodologia ainda não submetida à publicação.

Neste trabalho realizou-se a validação da metodologia espectrofotométrica dos elementos Cr e o Zn propondo-se abranger alguns elementos e características físico-químicas no biossólido para disposição agrícola discriminados na resolução CONAMA 375.

7 Curvas analíticas para determinação de elementos no biossólido

7.1 Potássio por fotômetro de chama

A curva analítica de determinação de K foi construída com 05 soluções-padrão em água desionizada, nas concentrações de 1, 3, 5, 10 e 17 mg L⁻¹, conforme figura 7.

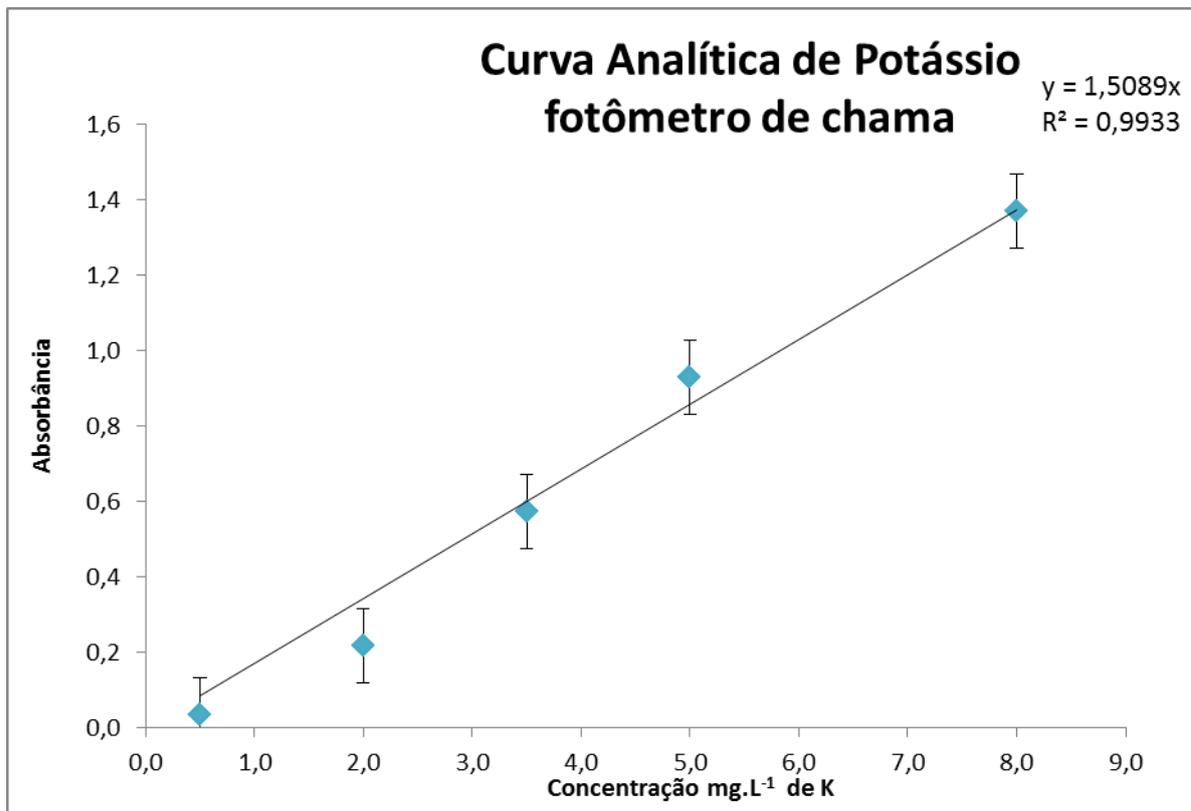


Figura 7- Curva analítica para determinação de K por fotômetro de chama

O resultado foi calculado considerando-se ainda, as diluições realizadas na amostra, conforme a equação da curva analítica a seguir:

$$y = 1,5089x;$$

7.2 Cobre por ICP-OES

A curva analítica de determinação de Cu foi construída com 05 soluções-padrão em água desionizada, nas concentrações de 1, 3, 5, 10 e 30 mg L⁻¹, conforme figura 8.

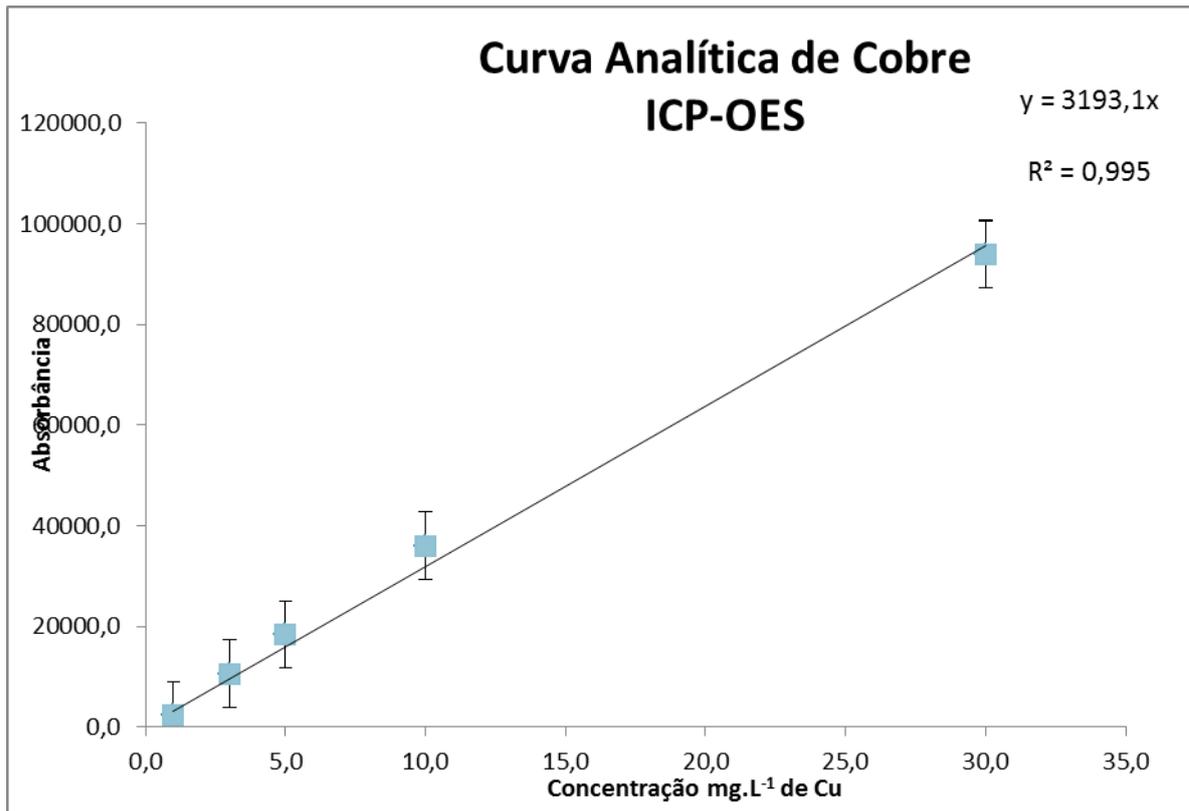


Figura 8 - Curva analítica para determinação de Cobre- ICP-OES

O resultado foi calculado considerando-se ainda, as diluições realizadas na amostra, conforme a equação da curva analítica a seguir:

$$y = 3193,1x;$$

7.3 Cálcio por espectrometria de absorção atômica

A curva analítica de determinação de Ca foi construída com 05 soluções-padrão em água desionizada, nas concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 4 mg L⁻¹, conforme figura 9.

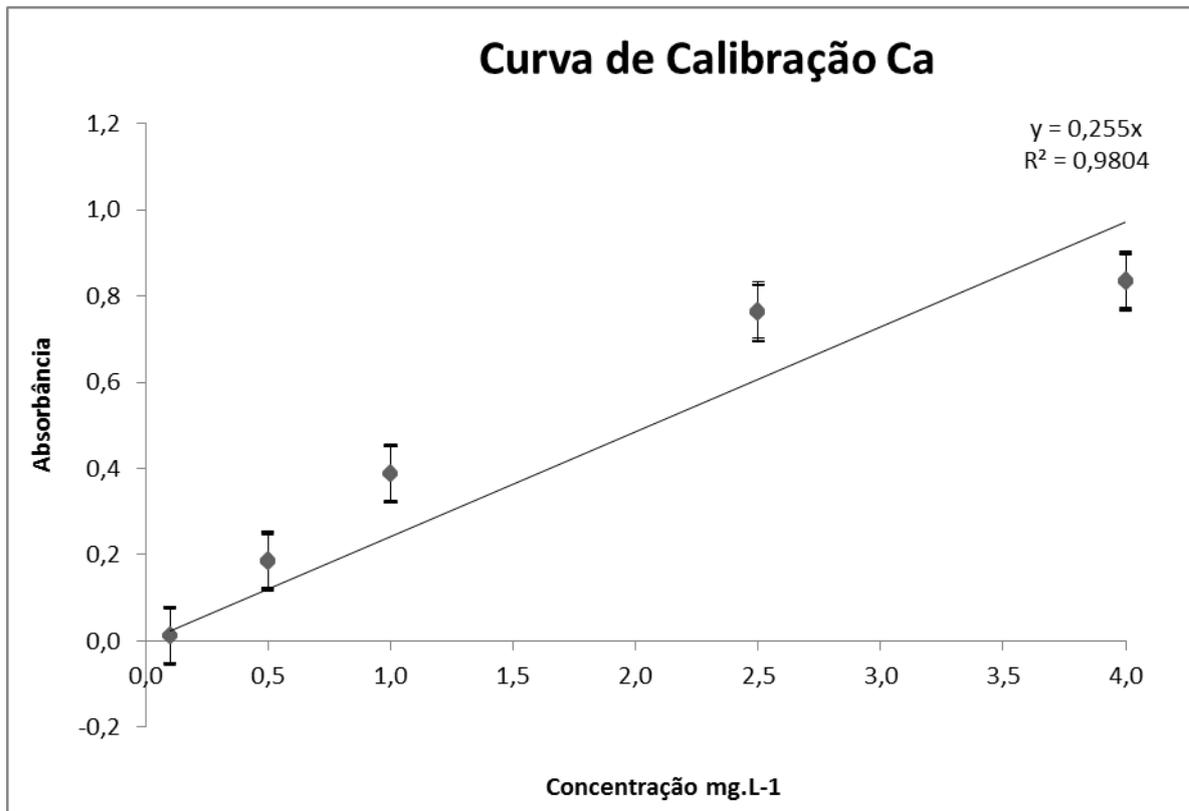


Figura 9 - Curva analítica para determinação de Ca por AAS

O resultado foi calculado considerando-se ainda, as diluições realizadas na amostra, conforme a equação da curva analítica a seguir:

$$y = 0,255x;$$

7.4 Magnésio por ICP-OES

A curva analítica de determinação de Ca foi construída com 05 soluções-padrão em água desionizada, nas concentrações de 0,1, 0,5, 1, 2,5 e 4 mg L⁻¹, conforme figura 10.

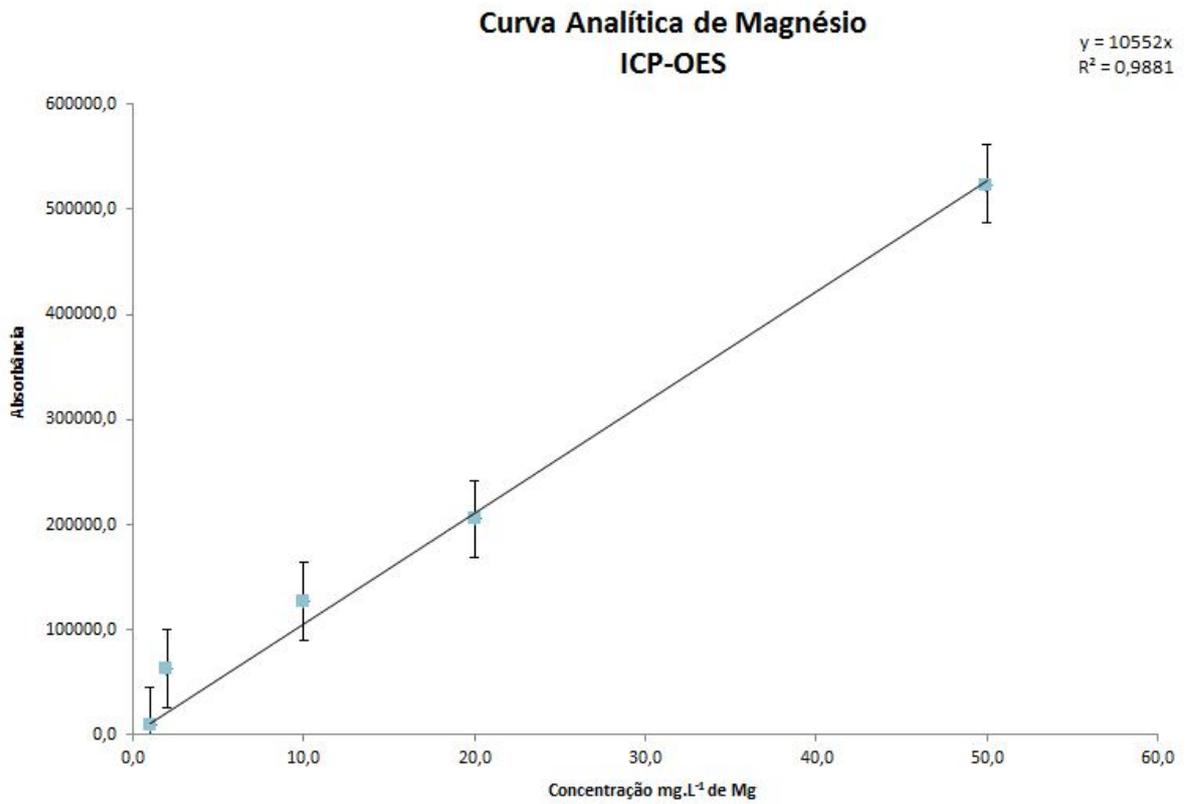


Figura 10 - Curva analítica para determinação de Magnésio - ICP-OES

O resultado foi calculado considerando-se ainda, as diluições realizadas na amostra, conforme a equação da curva analítica a seguir:

$$y = 10552x;$$

8 CONCLUSÃO

A validação da metodologia para os parâmetros agronômicos e de elementos potencialmente tóxicos no bioossólido foi obtida para os elementos cromo e zinco, na qual pode-se confirmar a validação das figuras de mérito segundo as orientações propostas pelo INMETRO no DOQ-CGCRE-008 de março de 2003 e foi possível comprovar a eficácia do método proposto.

Em relação aos parâmetros físico-químicos, o bioossólido atende as exigências da legislação da CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006 para disposição do lodo para uso agrícola em culturas de eucalipto, tanto no que se refere aos valores máximos permitidos de concentrações de elementos potencialmente tóxicos, e também no que diz respeito aos micronutrientes disponíveis no bioossólido.

REFERÊNCIAS

ALLOWAY, B.J. *Heavy metals in soil*. Glasgow, Blackie Academic and Professional, 1995. 368p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER POLLUTION; WATER POLLUTION. (1999). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 20^a ed. Washington: APHA/WWA/WPPCF.

ANDRADE, J. C. & ABREU, M. F. *Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais*. 1 ed. Editora da Unicamp, Campinas, 2006. 38 p.

ANDREOLI, C.V. Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. Rio de Janeiro: RiMa, ABES, 2001. 282p. Projeto PROSAB.

BAIRD, C. *Química Ambiental*. 2^a ed. Trad. M. A. L. RECIO & L. C. M. CARRERA. Porto Alegre, Bookman, 2002.

BETTIOL, W.;CAMARGO, O.A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

BETTIOL, WAGNER.CAMARGO, OTÁVIO ANTÔNIO DE. *Lodo de esgoto: Impactos ambientais na agricultura*. Jaguariúna: EMBRAPA 2006.

BIGHAM, J.M. *Methods of Soils Analysis*. Part 3. Chemical Methods. Madison, WI. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Book Series nº 5, 1996.

CARDOSO, L. M. N. & CHASIN, A. A. M. *Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos*. Salvador, Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001.

CETESB. *Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – Critérios para projeto e operação (Manual Técnico) Norma técnica P.4.230*. São Paulo 1999.

CETESB, *Resíduos sólidos industriais*. 2 ed. Cetesb, São Paulo, 1993.

CLAESSEN, M.E.C. *Manual de Métodos de Análise de Solo*. Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos EMBRAPA, 1997. p.83.

CONAMA. www.mma.gov.br/conama. Acessado em 10/04/2010.

COZZOLINO, S. M. F. *Biodisponibilidade dos nutrientes*. 1^a ed. Manole, Barueri, 2005. 631 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. *Standards for the use and disposal of sewage sludge: 40 CFR part 503: final*. Washington: The Agency, 1996. 25p.

FERNANDES, F; ANREOLI, C.V.; DOMASZAK, S.C. *Caracterização preliminar dos principais tipos de lodo de esgoto do Paraná para um programa de reciclagem agrícola*. Sanare, p.15-21, 1997.

HACH, 2001. *The Handbook Odyssey DR/2500 Spectrophotometer*. 2.ed. Loveland, HACH, 1v.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - *Orientação Sobre Validação De Métodos De Ensaio Químicos*. DOQ-CGCRE-008-Rev 3. São Paulo. 2010.

KORENTAJER, L. A review of the agricultural use of sewage sludge: benefits and potential hazards. *Water S.A.*, v.17, n.3, jul, p.189-196, 1991.

L.B.A. Alberguini, L.C. Silva, M.O.O. Rezende. *Tratamento de resíduos químicos: guia prático para a solução dos resíduos químicos em instituições de ensino superior*. 1^a. ed. São Carlos: Rima Editora, 2005. 100 p

LEITE, F. (1999). *Validação em análise química*. Campinas SP: Átomo.

MALAVOLTA, E. *Fertilizantes e seu Impacto Ambiental: metais pesados, mitos, mistificação e fatos*. São Paulo, Produquímica, 1994.

MANAHAN, S. E., *The Anthrosphere, Industrial Ecosystems, and Environmental Chemistry*, Boca Raton: CRC Press LLC, 2000.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C. & OLIVEIRA, A. B. “*Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto*”. *Rev. Bras. Cienc. Solo*, 28 (2): 385, 2004

RIBANI, M.; *Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos*. *Química Nova*. v.27, n. 5, p. 771-780, 2004.

VATHER, M.; AKESSON, A.; CECATELLI, C. & BERGLUND, S. “*Gender difference in the disposition and toxicity of metals*”. *Env. Res.*, 104 (1): 85, 2007