# UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS FACULDADE DE ENGENHARIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

#### KÉSIA CAROLINA BRONCA

(Bio)compostagem de Resíduos Agroindustriais para padronização e gestão ambiental sustentável.

DOURADOS/MS Julho/2023

#### KÉSIA CAROLINA BRONCA

(Bio)compostagem de Resíduos Agroindustriais para padronização e gestão ambiental sustentável.

Qualificação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Área de concentração: Ciência e Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo José de Arruda. Co-orientador: Prof. Dr. Rodrigo Matheus Pereira.

Co-orientador: Prof. Dra. Maricy Raquel Lindenbah Bonfa.

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

#### B869( Bronca, Késia Carolina

(Bio)compostagem de Residuos Agroindustriais para padronização e gestão ambiental sustentável, [recurso eletrônico] / Késia Carolina Bronca. — 2023.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Eduardo José de Arruda,

Coorientadores: Rodrigo Matheus Pereira, Maricy Raquel Lindenbah Bonfa.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio

Biocomposting. 2. fertilizers. 3. agro-industrial waste. 4. biosafety. 5. genomic sequencing. I.
 Arruda, Eduardo José De. II. Pereira, Rodrigo Matheus. III. Bonfa, Maricy Raquel Lindenbah. IV.
 Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

#### **AGRADECIMENTOS**

Sempre com Deus e minha fé, começo este agradecimento com a seguinte frase: "A gratidão desbloqueia a abundância da vida. Ela torna o que temos em suficiente, e mais. Ela torna a negação em aceitação, caos em ordem, confusão em claridade. Ela pode transformar uma refeição em um banquete, uma casa em um lar, um estranho em um amigo. A gratidão dá sentido ao nosso passado, traz paz para o hoje e cria uma visão para o amanhã." - Melody Beattie. Gratidão, realmente define o final deste capítulo. Entrei no mestrado em um período muito difícil, não só para nós pesquisadores, mas para o mundo, a pandemia. Vencer essa batalha, não é apenas por minha glória, mas pelo meu querido orientador Eduardo Arruda, que na minha busca e inexperiência, me acolheu e me ensinou. Todos os puxões de orelha não foram e nunca serão em vão. Agradeço imensamente pela sua paciência e disposição em enfrentar essa jornada comigo. Você se destacou como um exemplo de excelência acadêmica, me inspirando a buscar sempre o simples e direto. Em segundo, e não menos importante, agradeço a minha namorada e minha mãe, por me apoiar, ouvir meus choros, dúvidas, presenciar minhas vitórias e derrotas, mas nunca me deixando desistir. Aos meus amigos que me ajudaram e apoiaram meus caminhos e decisões. Aos colaboradores desta dissertação Dr. Rodrigo e sua esposa Dra. Maricy e ao Me. Nédio funcionário da OCA e responsável pela compostagem da empresa, vocês abraçaram minha ideia e ajudaram a buscar resultados. E por fim, a todas as dicas e conselhos dados pela banca, Dr. Clandio e Dra. Glenda. Temos um longo caminho a percorrer, mas uma batalha já foi vencida. Obrigada a todos.

#### LISTA DE ABREVIAÇÕES E SÍMBOLOS

DNA - Ácido Desoxirribonucleico. P – Fosforo K – Potássio Ca - Cálcio Mg - Magnésio N – Nitrogênio Al – Alumínio Fe – Ferro Na – Sódio PNRS - Política Nacional de Resíduos Sólidos RSO – Resíduos Sólidos Orgânicos BDA – Ágar Batata Dextrose PCA – Plate Count Ágar PCR - Polymerase Chain Reaction UFC - Unidade Formadora de Colônia PIB - Produto Interno Bruto MO – Matéria Orgânica MOS - Material Orgânico no Solo CO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono  $CH_4$  – Metano CMMAD - Comissão Mundial sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento PLFA - Análise de ácidos graxos fosfolipídicos VRB - Vermelho Violeta Bile

ICP - Plasma de Acoplamento Indutivo

PMI - Perda de Massa por Ignição

NaCl - Cloreto de Sódio

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Palavras chaves utilizadas e resultados da análise bibliométrica	26
Tabela 2. Revistas e artigos referentes às pesquisas com as palavras chaves	28
Tabela 3. Determinação das amostras pelo laboratório BioTec: 2019 e 2020	50
Tabela 4. Determinação das amostras pelo laboratório BioTec: 2020 e 2021	51
Tabela 5. Determinação das amostras pelo laboratório AP AGROSCIENCES:	202251
Tabela 6. Determinação das amostras pelo laboratório BioTec e AP AGROSO	IENCES
07/e 08/2022	52
Tabela 7. Média e desvio padrão encontrado das análises.	53
Tabela 8. Dados da extração de cátion	55
Tabela 9. Determinação de sólidos totais fixos	56
Tabela 10. Determinação de sólidos voláteis	56
Tabela 11. Determinação de sólidos totais	57
Tabela 12. Análise de umidade	59
Tabela 13. Resultados obtidos no procedimento de análise granulométrica	60
Tabela 14. Determinação quantitativa de sílica	60
Tabela 15. Determinação de material orgânico das leiras	61
Tabela 16. Contagem dos fundos e bactérias em meio Petrifilm, PCA, l	PCA com
Fluconazol BDA	64
Tabela 17. As amostras foram separadas da seguinte forma	87
Tabela 18. Segunda leva de amostras sobre teor de cinzas.	88
Tabela 19. Pesagem final	88
Tabela 20. Medidas das peneiras usadas	90

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura das leiras para produção de (bio)compostagem	22
Figura 2: Esquema da estrutura, composição e organização de um agregado de solo	o25
Figura 3: Mapa de similaridade	31
Figura 4: Localização da OCA Ambiental Ltda	33
Figura 5: Técnica de semeadura Pour-Plate	40
Figura 6: Técnica de semeadura em placa.	41
Figura 7: Estrutura das leiras em funcionamento	45
Figura 8: Verificação da temperatura e umidade das leiras com resíduos agroindus	triais
da OCA Ambiental	48
Figura 9: Resolução da equação de sólidos totais fixos.	56
Figura 10: Resolução da equação de sólidos voláteis.	56
Figura 11: Resolução da equação dos sólidos totais	57
Figura 12: Resolução da equação do teor de umidade	59
Figura 13: Resolução da equação de sílica	61
Figura 14: contagem de UFC em Petrifilm para identificação de E. coli refere	nte a
amostra de 1x (mês)	62
Figura 15: Técnica em Petrifilm para E. Coli	63
Figura 16: Técnica em Petrifilm para E. coli no teste de número 2, amostra de 6 n	neses
e PCA para teste de fungos na amostra de 1 mês	63
Figura 17: Concentração em pares de base de DNA	66
Figura 18: Resíduos da Filtragem	88
Figura 19: Equação para transformação em porcentagem.	90
Figura 20: Resultado da calcinação.	91
Figura 21: cálculo utilizado para descoberta do teor de matéria orgânica nas	
análises	116

## GRÁFICOS

Gráfico 1: Rarefação bactérias	67
Gráfico 2: Rarefação de fungos	68
Gráfico 3: Tabela de filos	70
Gráfico 4: Tabela de gêneros	72
Gráfico 5: Tabela de filos de fungos	73
Gráfico 6: Tabela de gênero de fungos	75

#### **RESUMO**

A expansão da produção agrícola brasileira demanda fertilizantes e por outro lado há aumento da geração de resíduos agroindustriais. Estes oportunizam a possibilidade de combinar estudos para viabilizar o uso e a destinação final dos resíduos e produtos com valoração, suprimentos agrícolas e redução de impactos ambientais. (bio)compostagem é uma técnica que permite a reciclagem de resíduos orgânicos por uso de recursos naturais. A técnica permite a transformação de resíduos orgânicos na forma de fertilizantes e é adequada para o tratamento de resíduos agroindustriais, principalmente os de origem orgânica. O processo de (bio)compostagem foi realizado na OCA AMBIENTAL de Dourados, Mato Grosso do Sul, em escala industrial, por uso de leiras com revolvimento periódico para adequação aos processos aeróbicos e/ou anaeróbicos na degradação dos resíduos orgânicos por combinações, peneiramento e maturação por estocagem em área aberta. Os revolvimentos foram realizados a cada 20 dias. A largura das leiras variava entre de 3m a 4m e altura de 1,0m a 1,5m. O comprimento das leiras foi variável de acordo com o espaço disponível, normalmente, entre 20 a 50m [43]. As leiras foram monitoradas quanto ao teor de umidade, pH, carbono total, nitrogênio total, relação C/N e volume para acompanhamento do processo de compostagem. Análises laboratoriais foram realizadas de forma periódicas e utilizadas para determinação dos conteúdos de nutrientes disponíveis, determinação de micro e macronutrientes, parâmetros do processo, microrganismos, funcionalidade e biossegurança do produto final. No trabalho foram também realizadas as comparações bibliográficas para estabelecimento do estado da arte e caracterização dos materiais, manipulação e propriedades. Foram analisadas 3 (três) amostras de solo quanto à sua microbiota através do sequenciamento genômico. Somente 2 (duas) amostras tiveram quantidade e qualidade de DNA suficientes para análise, sendo identificado diversos filos de bactérias e fungos. Nas quais, as mais destacadas são Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes foram os mais comuns para bactérias e Ascomycota para fungos. Algumas espécies encontradas são patogênicas para humanos e plantas. As informações da composição dos insumos e/ou matérias primas agroindustriais de diferentes origens foi realizada pelo sistema de aterro e, permitindo a padronização da (bio)compostagem para elaboração de fórmulas de fertilizantes com propriedades para as culturas de MS.

**Palavras-chave:** biocompostagem, fertilizantes, resíduos agroindustriais, biossegurança, sequenciamento genômica.

#### **ABSTRACT**

The expansion of Brazilian agricultural production demands fertilizers, and on the other hand, there is an increase in the generation of agro-industrial waste. These opportunities allow for the possibility of combining studies to make use and final disposal of waste and products with valuation, agricultural supplies, and reduction of environmental impacts viable. (Bio)composting is a technique that allows for the recycling of organic waste by using natural resources. The technique enables the transformation of organic waste into fertilizer form and is suitable for the treatment of agro-industrial waste, mainly organic. The (bio)composting process was carried out at OCA AMBIENTAL in Dourados, Mato Grosso do Sul, on an industrial scale by using piles with periodic turning to adapt to aerobic and/or anaerobic processes in the degradation of organic waste 'by combinations, sieving and maturation by storage in an open area. Turning was carried out every 20 days. The width of the piles varied between 3m to 4m, and height from 1.0m to 1.5m. The length of the piles was variable according to the available space, usually between 20 to 50m [43]. The piles were monitored for moisture content, pH, total carbon, total nitrogen, C/N ratio, and volume to monitor the composting process. Laboratory analyses were carried out periodically and used to determine the contents of available nutrients, determination of micro and macronutrients, process parameters, microorganisms, functionality, and biosafety of the final product. In the study, bibliographic comparisons were also made to establish the state of the art and the characterization of materials, handling, and properties. Three soil samples were analyzed for their microbiota by genomic sequencing. Only two samples had sufficient quantity and quality of DNA for analysis, with various bacterial and fungal phyla being identified. Among them, Proteobacteria, Actinobacteria, and Firmicutes were the most common for bacteria, and Ascomycota for fungi. Some species found are pathogenic to humans and plants. Information on the composition of agro-industrial inputs and/or raw materials of different origins was performed by the landfill system, allowing the standardization of (bio)composting for the elaboration of fertilizer formulas with properties for MS crops.

**Keywords:** Biocomposting, fertilizers, agro-industrial waste, biosafety, genomic sequencing

## SUMÁRIO

2. Objetivos	16
2.2 Objetivos específicos	16
3. Revisão de literatura	16
3.1 Logística reversa	16
3.2 Resíduos orgânicos	17
3.3 Lignocelulose	20
3.4 (Bio)compostagem	21
3.5 Impacto ambiental	23
3.6 Microbiologia do solo	24
4. Materiais, métodos e técnicas de pesquisa	26
4.2 Análises quali-quantitativa	29
4.3 OCA Ambiental	32
4.4 Procedimentos utilizados nas análises em laboratório: metodologia	33
4.5 Análise de diversidade microbiológica: análise molecular	33
5. Informações, tipo e análises físico-químicas de resíduos agroindustriais coletados	34
5.1 Terra Diatomácea	34
5.2 Cinzas de caldeira	35
5.3 Carvão vegetal	36
6. Comunidades microbianas dos sistemas de (bio)compostagem	37
6.1 Contagem de microrganismos: Técnicas de cultivo de bactérias e fungos em m	eios
de cultura	39
6.2 Homogeneização e diluição seriada da amostra utilizada	40
7. Espaço utilizado para produção da biocompostagem e informações adicionais	s ac
desenvolvimento da temática	41
7.1 As leiras de (bio)compostagem	43
8. Problemática dos resíduos agroindustriais	46
9. Monitoramento das leiras de (bio)compostagem com resíduos agroindustriais	47
9.1 Controle de temperatura	47
9.2 Controle de umidade da biomassa em transformação	47
9.3 Controle de aeração	48
10. Resultados e discussões	49
10.1 Análise da composição de (bio)compostagem a partir de resíduos agroindustriai	is 50

10.2 Análise de amostras de biocompostagem obtidos nas leiras em 2022 e 2023.	55
11.3 Teor de materiais orgânicos (MOs)	61
10.4 Análises microbiológicas: identificação de microrganismos da amostra 1 (um) n	nês.
62	
10.4 Análises genômicas de bactérias e fungos da amostra de 6 (seis) (meses)	da
(bio)compostagem (IB/UNICAMP)	65
11. Considerações finais	76
12. Propostas futuras de estudo:	79
13. Referências	80
ANEXO I	87

#### 1. Introdução

A compostagem é uma técnica convencional de reciclagem que possibilita a utilização de resíduos orgânicos domiciliares, agropecuários, agroindústrias e outros, para reuso, atendimento de demandas por fertilizantes e minimização de impactos ambientais. A gestão dos resíduos orgânicos por uso da compostagem pode ser utilizada em diferentes escalas, incluindo a produção familiar [49] e até escala industrial em aterros sanitários.

Os materiais podem ser diversos e dentro da classificação dos resíduos agroindustriais, temos a presença, por exemplo, de lignocelulose, o que de acordo com [50] existe uma dificuldade de degradação desses materiais lignocelulósicos para o processo de produção da biocompostagem. Os mesmos enfatizam que a dificuldade na degradação da lignina consiste na complexidade estrutural, elevada massa molecular e insolubilidade. Para tanto, níveis elevados de oxigênio são necessários para aumentar a taxa de biodegradação da lignina, há um recurso adicional para o processo por uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como parte do processo de oxidação extracelular e a indução subsequente de atividade ligninolítica por microrganismos [52].

O trabalho considera como premissa a reciclagem dos resíduos agroindustriais para uso como insumo na prática e padronização da biocompostagem para uso em agricultura regenerativa e fertilização do solo. Para tanto, os insumos/resíduos agroindustriais utilizados para a pesquisa foram obtidos, recebidos, processados e disponibilizados após a biocompostagem realizada pela empresa OCA AMBIENTAL, Dourados, MS.

Os resíduos utilizados na (bio)compostagem possuem origens em empresas agroindustriais. Os resíduos são: restos de culturas, granjas aves e suínos, frigoríficos, rações, óleos, cinzas entre outras. Os materiais orgânicos como resto de ração, sobra de filtragens carcaça animal, casca de ovos, cama de granja, restos de palhadas, farelo de soja e milho, vísceras de frango e suínos, resíduo de incubatório entre muitos outros são matéria primas e insumos para a reciclagem e aproveitamento dos recursos fertilizantes com vista ao aproveitamento e redução dos impactos ambientais.

Embora a prática de (bio)compostagem de resíduos para utilização como fertilizantes tenha aumentado nos últimos anos, pouco se conhece sobre a microbiota decompositora e/ou microrganismos de solo responsáveis pelas transformações físico-químicas e biológicas como que ocorrem nos compostos durante o processo de

compostagem e/ou a segurança biológica desses produtos e outras funcionalidades que podem valorizá-los. [43]

As análises podem ser realizadas para conhecimento e/ou adequação desses produtos biodecompostos, por exemplo, a análise genômica do composto para conhecimento da dinâmica e colonização desse substrato fertilizante, apesar de significar que o DNA detectado não significa necessariamente que os microrganismos estejam vivos, mas estiveram presentes no material sequenciado.

O material disponibilizado pela empresa foi coletado em diferentes períodos para análise para a caracterização, aplicação e compreensão do produto, comportamento e propriedades para uso, melhorias e aplicações específicas. A caracterização buscou concentrar os usos do produto na fertilização e/ou regeneração do solo a partir de um substrato orgânico com nutrientes para aumento da microbiota, funcionalidades físico-químicas e biológica para os vegetais na melhor absorção e contenção dos nutrientes e melhoria das características físico-químicas do solo, ciclo da água, serviços ambientais, sequestro de carbono, resiliência às mudanças climáticas e, vitalidade do solo agrícola. Ou seja, buscam-se produtos e/ou práticas que incluam a reciclagem dos resíduos agroindustriais no local ou próximo à sua produção, que disponibiliza os recursos na maior quantidade resíduos agrícolas, baixos custos e a possibilidade de diversificação de materiais para a compostagem oriundos de empresas terceiras.

Os estudos realizados podem permitir com base nas amostras das matérias primas e insumos utilizados para o produto final uma análise dos conteúdos dos resíduos recebidos pela empresa, para a elaboração de biofertilizantes com 100% do material encaminhado para (bio)compostagem em critérios técnicos e que podem ser padronizados por misturas dos biocompostos a partir da periodicidade de fornecimento das origens identificadas e valoradas, assim como caracterização dos produtos e misturas nas formulações.

Os resultados das análises, as comparações bibliográficas e processos podem permitir determinar qual tipo de material está sendo recebido, manipulado por período em termos de concentração de micro e macronutrientes e biocompostagem para usos agrícolas, aplicações específicas ou até uso geral na fertilização de solos. As informações da composição das matérias primas recebidas pelo sistema de aterro, adições e/ou transformações podem permitir a elaboração de formulações de (bio)compostos mais adequados as culturas do Mato Grosso do Sul, por exemplo,

considerando as condições locais que uma planta ou cultura utiliza para sobreviver no ambiente ou tipo de solo. Espera-se que os resultados dos estudos por determinação preliminar dos compostos produzidos pela OCA AMBIENTAL tenham composição (bio)nutritivas necessárias para suprimento das necessidades do solo. A problemática enfrentada é que os insumos são diversos, recebidos de formas periódicas e não possuem uma caracterização definitiva e/ou padrão de recebimento, composição e propriedades estabelecidas para o uso do biocomposto.

#### 2. Objetivos

Determinar conteúdos de micro e macronutrientes no produto processado de resíduos agroindustrial para a produção de fertilizantes e/ou insumos agrícolas biológicos, bem como, analisar o DNA da microbiota presente e compará-la com a biblioteca genômica.

#### 2.2 Objetivos específicos

- Quantificar as características físico-químicas e biológicas da biocompostagem;
- Identificar um padrão de constituintes e/ou processos destinados a aplicação dos produtos como fertilizantes ou insumos biológicos.

#### 3. Revisão de literatura

#### 3.1 Logística reversa

Buscou-se entender a dinâmica e logística reversa do produto e insumos utilizados na produção da (bio)compostagem. De acordo com [32], a logística reversa é uma área do segmento logístico, responsável por planejar, controlar e operar os fluxos reversos de produtos não consumidos (pós-venda) ou de produtos consumidos (pós-consumo), viabilizando equacionar o retorno e destinação adequada destes produtos ao ciclo de consumo.

Os primeiros estudos sobre logística reversa ocorreram nas décadas de 1970-1980 com foco principal em como realizar o retorno de bens através do processo de reciclagem, em 1990 o enfoque em como aconteceria o retorno de produtos não consumidos.

Para que todo o processo de logística reversa seja viável é necessário que o fluxo de recuperação do produto seja eficiente, estratégico e de baixo custo, tornando o

processo economicamente viável para todas as partes envolvidas, do produtor até consumidor final [15]. Portanto, a logística reversa acontece dentre sistemas operacionais diferentes em cada categoria de fluxos reversos, com o objetivo de tornar viável o retorno destes bens e/ou materiais pertencentes ao ciclo produtivo ou de negócios, após terem sido descartados como produtos (resíduos) de pós-venda ou pós consumo.

Com a promulgação da lei 12.305/10, de 02 de agosto de 2010, que instituiu a Política Nacional dos Resíduos Sólidos (PNRS), a logística reversa se firma como instrumento de política pública para o desenvolvimento econômico e social para a coleta e a restituição dos resíduos sólidos com vistas ao aproveitamento em ciclos produtivos, ou outra destinação final que seja ambientalmente adequada. A política preconiza a divisão de responsabilidades sobre o ciclo de vida dos produtos, imputando ao poder público o dever de incentivar e disponibilizar mecanismos para práticas da coleta seletiva de resíduos aos participantes, e os acordos setoriais necessários à logística reversa.

Para tratar sobre o assunto, que está implícito no trabalho, deve-se entender as abordagens utilizadas e/ou que estes são sujeitos até o produto final. Os interesses científicos e tecnológicos relacionadas à logística reversa ganham relevância e espaço nas pesquisas acadêmicas e/ou tecnológicas e atenção de pesquisadores de diferentes áreas de conhecimento [12].

A ampliação dos estudos relacionados à temática de resíduos e da logística reversa, mostra reflexos da relevância ao tema na atualidade, por exemplo, aspectos de eficiência, custos e/ou (re)aproveitamento desses resíduos processados em processos industriais ou até na aplicação e uso na área agrícola para as culturas no campo.

O setor agrícola brasileiro é parte relevante para a economia nacional e representa importante parcela no PIB, contribuindo com cerca de 21% do produto interno da economia em 2015 [13]. Dentre as atividades que vem se desenvolvendo, em intensidade no setor agropecuário, destacam-se os sistemas agrícolas intensivos como os agroindustriais, que tem colocado esse setor da economia em posição de destaque no agronegócio no mercado interno e externo [54].

#### 3.2 Resíduos orgânicos

De acordo com o Ministério do Meio Ambiente [3], os resíduos orgânicos representam em média 50% dos resíduos sólidos produzidos no Brasil, os quais são descartados em aterros sanitários sem utilização prática desses recursos ou biomassa; sendo que grande parte desse material poderia ser reaproveitado para a produção de adubos e fertilizantes utilizando dos conceitos da logística reversa, por processos de transformação in situ, por exemplo, por biocompostagem ou vermicompostagem.

Os resíduos oriundos das atividades agrossilvipastoris, sejam nos processos desenvolvidos no campo desde o plantio a colheita ou ainda oriundos de consumo de insumos externos, ou mesmo, os resíduos produzidos em atividades agroindustriais acabam por se tornarem problemáticos se não forem dispostos ou processados. Conforme previsão legal, o art. 1° da lei 12.305/10, de 02 de agosto de 2010, que define resíduos agrossilvipastoris como: "os gerados nas atividades agropecuárias e silviculturais, incluídos os relacionados a insumos utilizados nessas atividades".

Da mesma forma, o crescimento da produção agropecuária associado a maior agroindustrialização da produção com padrões de produção crescente baseados no consumo de insumos externos (dependência), tem gerado um aumento na produção de resíduos. Destacam-se que atividades mais intensivas e/ou geradoras de resíduos estão concentrados nos processos produtivos e, decorrem da agroindustrialização que está em expansão, mas podem descortinar novas perspectivas no Brasil, principalmente na área da formulação de bioprodutos e biocombustíveis [30]. Todos estes fatores, demandas e dependências fazem com que a cada ano aumente consideravelmente a produção de resíduos sólidos decorrentes das atividades agrossilvipastoris e agroindustriais tanto na forma orgânica como inorgânica que devem ser processados e/ou reutilizados [27].

O crescimento do setor de agronegócios aliado ao incremento de sistemas mais intensivos de produção tem proporcionado crescentes gerações de resíduos das atividades agroindustriais e agrossilvipastoris com preocupações ambientais, mas, por outro lado, oportuniza negócios com estes materiais/insumos que detêm valor econômico ou energético e podem ser reprocessados. Alia-se, assim, a oportunidades de negócios com os resíduos agroindustriais ou agrossilvopastoris, que podem representar consideráveis ganhos econômicos, sociais e ambientais ao utilizá-lo, ao invés de descartá-los de forma inadequada, contribuindo para o controle da poluição, utilidade, melhoria das condições de saúde pública e ambientais [28].

As estimativas de resíduos produzidos em agroindústrias (resíduos orgânicos e inorgânicos) nas principais culturas brasileiras, somente no ano de 2009, apontavam uma produção de 291 milhões de toneladas de resíduos sólidos oriundos de unidades agroindustriais. Este dado demonstra o desafio para a destinação final e/ou aproveitamento desses resíduos/biomassa no setor agropecuário, mesmo não considerados os resíduos produzidos na agricultura, pois são de difícil mensuração e, devido a técnica de plantio direto acabam por ficar na área de produção, sujeitos a queimas, reuso ou cobertura do solo para as vantagens intrínsecas do processo produtivo de plantio direto [27].

Dentre a gama de resíduos originados das atividades da agricultura, pecuária, aquicultura, silvicultura e agroindústrias relacionadas, que possuem origem orgânica revelam-se promissores ao aproveitamento por biocompostagem, dado o potencial de dependência e/ou formulação de insumos ricos em matéria orgânica/microrganismos que serão aplicados ao campo na forma de adubos, substratos, biofertilizantes ou mesmo como fontes energéticas aproveitáveis [5] [44]. Desse modo, estes resíduos devem ser reprocessados, pois poderiam ser problemáticos quando utilizados e/ou descartados no meio ambiente de forma aleatória.

Segundo Santos, Bellingieri e Freitas [52], são evidentes os problemas causados pelo manejo inadequado dos resíduos no meio ambiente para o homem, resultando em sérios prejuízos econômicos, sociais e de saúde, além do aspecto da degradação ambiental decorrente da eutrofização de corpos hídricos, custos e gastos nas medidas de prevenção e tratamentos de saúde ou ambiental.

Os resíduos agrícolas são potencialmente ricos em matéria orgânica (MO) e micro e macronutrientes que podem ser disponibilizados reprocessados e destinados para as plantas e, recomposição da microbiota do solo, mas que, embora possuam estes potenciais, normalmente, não tem sido aproveitado.

Na reciclagem a compostagem aeróbica mineraliza e estabiliza a MO para obter fertilizantes orgânicos de alta qualidade, sem fitotoxicidade e/ou patógenos, contribuindo para resolver os problemas resultantes de poluição ambiental e evitando o desperdício dos recursos da biomassa agroindustrial.

No entanto, durante a rápida decomposição da MO, são necessárias grande quantidade de oxigênio na pilha de compostagem que são consumidas e, em regiões mais baixas na decomposição podem formar um ambiente/espaço anaeróbico de forma

localizada, que inevitavelmente pode produzir gases como o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e metano (CH<sub>4</sub>) [35] [39]. Mas, estudos mais atuais mostram que a inoculação de microrganismos pode degradar parte dos resíduos, por exemplo, lignocelulose e acelerar a conversão da MO, além de promover a maturação do produto [36].

#### 3.3 Lignocelulose

Os resíduos e materiais lignocelulósicos são parte importante dos resíduos agroindustriais e, podem ser utilizados como matéria-prima para a produção de alimentos, combustíveis, insumos químicos, enzimas e bens de consumo, mas podem ser problemáticos no processo de (bio)compostagem. O teor de lignina, acessibilidade da celulose a enzimas e micro-organismos e o grau de cristalinidade da celulose podem interferir e determinar a digestibilidade total da biomassa e/ou sua aplicabilidade [31].

Os materiais lignocelulósicos são os materiais orgânicos mais abundantes da biosfera, representando aproximadamente 60% da biomassa vegetal. Estes podem ser divididos em 6 (seis) grupos principais: resíduos de colheitas (bagaço de cana, palha de milho etc.), madeira de lei (álamo alpino e álamo), madeira de conífera (pinheiro e abeto), resíduos celulósicos (lodo de papel e papel reciclado, jornais etc.), biomassas herbáceas (feno de alfafa, caniço-malhado etc.) e resíduos sólidos municipais.

Por outro lado, alguns dos subprodutos da agropecuária, como bagaço de cana, palha de cana, arroz e trigo estão sendo utilizados por via biotecnológica na produção de produtos diversos, como: acetato de celulose, blendas e compósitos, etanol de segunda geração, hidroximetilfurfural, papel e celulose, revestimentos acústicos, madeira prensada, alcalóides, enzimas, xilitol, polpa celulósica, celulose bacteriana, e como combustível sólido na produção de energia. [14] [22]. O teor de extrativos e o teor de lignina pode aumentar o poder calorífico da biomassa em aplicações como combustível sólido [16] [20] e, são componentes estruturais importantes e, que podem auxiliar, por exemplo, na adesão de partículas como aglutinantes, quando em processos de extrusão em temperaturas elevadas para a produção de pellets ou aglomerados para diferentes aplicações.

Embora os resíduos lignocelulósicos agroindustriais necessitem, na sua maioria, de um tratamento prévio, por meio de hidrólise ácida ou enzimática para disponibilizar os açúcares fermentescíveis, é importante destacar a importância dessas matérias-primas, uma vez que apresentam baixo custo e alta disponibilidade.

#### 3.4 (Bio)compostagem

O termo (bio)compostagem é utilizado devido a diversidade de processos biológicos e/ou fisico-químicos na transformação dos resíduos orgânicos em material decomposto. É um processo de reciclagem de materiais orgânicos, como folhas, restos de comida, serragem, estercos, entre outros para a produção de adubo ou fertilizantes orgânicos. A compostagem pode ser realizada em forma de pilhas ou leiras com a mistura de diferentes materiais. Nesta conformação de processamento e/ou processo dos resíduos, estes são transformados em substratos orgânicos, adubos ou fertilizantes por microrganismos, como: fungos, bactérias, insetos e até pequenos animais e, devido as condições do processo de degradação, i.e. (bio)compostagem.

Os principais componentes orgânicos dos resíduos, por exemplo, esterco de aves são celulose, hemicelulose, proteína, gordura e lignina e outros. Estas substâncias diferem em biodegradabilidade durante o processo de fermentação de compostagem [8]. Os carboidratos e gorduras brutas são matériais orgânicos que podem ser facilmente degradadas no processo, enquanto a fração lignocelulósica como celulose e a hemicelulose são materiais orgânicos, mais difíceis de degradar e a lignina é basicamente não degradada devido a estabilidade química e biológica [64]. Portanto, a degradação da hemicelulose, celulose e lignina é uma parte importante no processo de fermentação dos compostos orgânicos que os contém para a produção de (bio)compostagem [6].

O processo de compostagem pode ser definido como uma decomposição controlada, exotérmica e bioxidativa de materiais de origem orgânica por microrganismos autóctones, num ambiente que contenha umidade, aquecido e aeróbio (disponibilidade de oxigênio atmosférico), com produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), água, minerais e, matéria orgânica estabilizada, definida como compostagem ou húmus [45].

O sistema de compostagem com parâmetros de processamento adequados pode ser utilizado para reduzir/minimizar a quantidade de resíduos orgânicos de descartes em aterros sanitários. O processo de reciclagem de material orgânico por (bio)compostagem pode colaborar com práticas sustentáveis para o meio ambiente, melhorar a qualidade dos alimentos, restabelecer a microbiota e fertilidade do solo, reduzir a demanda e dependência de adubos sintéticos em culturas, mas, principalmente, manter a fertilidade

do solo, além de proporcionar economia e renda alternativa com a comercialização dos produtos da (bio)compostagem. Na Figura 1 mostram-se as estruturas e arrumação das leiras (triangulares) para a decomposição do material orgânico em compostagem.

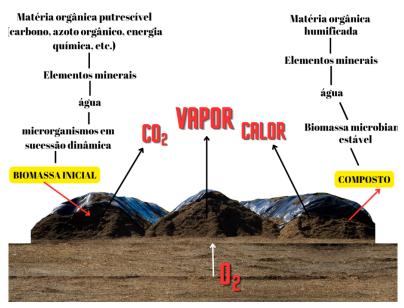


Figura 1. Estrutura das leiras para produção de (bio)compostagem

Fonte: autor

A compostagem corresponde à oxidação da fração orgânica selecionada, devido a ação de microrganismos sob condições aeróbicas e condições adequadas de processo de decomposição. No processo são consideradas 2 (duas) fases principais: 1) a fase ativa, caracterizada por altas temperaturas, intensa reações de decomposição, ocorrendo a intensa liberação de calor (reação exotérmica), CO<sub>2</sub> e vapor de água; e 2) a fase de acabamento, em que a temperatura volta a se equilibrar com a temperatura ambiente; as populações de microrganismos alcançam um equilíbrio dinâmico e há sínteses de substâncias húmicas durante a etapa de maturação da (bio)compostagem. (CORDEIRO, 2010).

Em termos legais e ambientais a Política Nacional de Resíduos Sólidos (Lei 12.305/2010) destaca a necessidade da implantação de sistemas de compostagem para o tratamento de Resíduo Sólido Orgânico (RSO) uma vez que este promove a estabilização, reduz o volume dos resíduos destinados a aterros sanitários e gera um produto rico em matéria orgânica (MO) mais humificada; este produto é um substrato

importante para correção, restabelecimento da microbiota de solo, processos dinâmicos para contenção de micro e macronutrientes, água e fertilidade do solo (BRASIL, 2010).

Os fatores que influenciam o processo de (bio)compostagem são: microrganismos, aeração, umidade, relação Carbono/Nitrogênio (C/N) e temperatura do processo.

Segundo Kiehl (1985), nos primeiros dias de processo de compostagem aeróbia o composto torna-se mais ácido (H<sup>+</sup>) devido à formação de pequenas quantidades de ácidos minerais que desaparecem, dando origem aos ácidos orgânicos (substâncias ricas em grupos carboxilados, R-COOH) que reagem com bases provocando elevações do pH. Para Kiehl (1985), um composto final deve ter o pH entre 6 e 7,5 para ser considerado adequado.

#### 3.5 Impacto ambiental

O impacto ambiental pode ser definido como qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, causado por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas (antropofilicas) que direta ou indiretamente, afetam a saúde, segurança e bem estar da população e ambiente; as atividades sociais e/ou econômicas; a biota e a qualidade e disponibilidade dos recursos ambientais. Esta definição exclui o aspecto significância, uma vez que considera como impacto ambiental "qualquer alteração ... no ambiente", independentemente de ser ou não significativa.

Avaliação de impactos ambientais é um instrumento de política ambiental, formado por um conjunto de procedimentos, capaz de assegurar, desde o início do processo, que se faça um exame sistemático desses impactos ambientais de uma ação proposta e de suas alternativas para realizar as correções.

A avaliação de impactos ambientais pode ocorrer em 2 (dois) momentos: antes da ação potencialmente impactante – avaliação "ex-ante", e depois dela – "ex-post". A avaliação "ex-ante" de impactos ambientais, por exemplo, com herbicidas é feita, por exemplo, quando do processo de registro de um novo produto, enquanto a avaliação "ex-post" pode ser feita depois do seu uso nas culturas vegetais. A avaliação "ex-ante" para fins de registro de agrotóxicos vem sendo discutida e conduzida há anos e está agora sendo revisada com enfoque em análise de risco ambiental, propriamente dita.

Os impactos ambientais podem ser classificados qualitativamente segundo 6 (seis) critérios: valor, ordem, espaço, tempo, dinâmica e plástica. Assim, o uso de um herbicida pode causar impactos diretos e indiretos; locais, regionais e/ou globais; imediatos, de médio ou longo prazo; temporários, cíclicos ou permanentes; reversíveis ou irreversíveis entre outros que podem se conjugar.

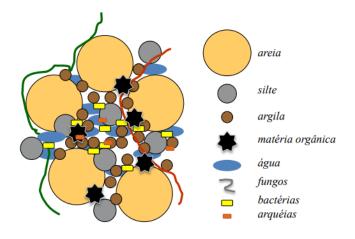
Em áreas agrícolas, os impactos podem ainda ser de fonte difusa, causados pela contaminação proveniente da aplicação regular, ou pontual, quando ocorre descarga (acidental ou não) durante o transporte e manuseio de herbicidas. Os impactos podem ocorrer nos meios físico-químico (abiótico), biótico e socioeconômico, portanto, a avaliação de impactos ambientais dos herbicidas deve contemplar, sempre que possível, os aspectos ecológicos, sociais e econômicos mantendo estreita relação com o conceito de sustentabilidade agrícola e redução de impactos ambientais.

#### 3.6 Microbiologia do solo

O microbioma do solo é o conjunto de seres microscópicos que vivem nesse substrato. Estima-se que 1 (um) grama de solo contém mais de 10 mil espécies diferentes de microrganismos. Assim, cerca de um bilhão de bactérias, 100 mil fungos, além de protozoários, algas e outros estão presentes. No solo os microrganismos realizam diversas atividades, entre elas as etapas finais da degradação da matéria orgânica, quebra de porções microscópicas de matéria orgânica em tamanhos menores para absorção e outras funcionalidades. Quando a matéria orgânica chega em seu grau máximo de decomposição, ela se torna húmus [19].

A composição da microbiota do solo pode ser alterada, em função do tipo do solo, clima, fatores físico-químicos, biológicos e outros. A forma como a matéria orgânica é degradada pode ser diferente em cada região a partir dos diferentes parâmetros. Em lugares de clima mais quente a degradação ocorre mais rápido, por exemplo devido a disponibilidade de energia e microrganismos. No aspecto físico do solo, os microrganismos hidrolisam e oxidam para produzir moléculas cimentantes/aglutinantes com diferentes grupos funcionais que ajudam na agregação do solo, melhorando mais a retenção de água e nutrientes [19]. Na Figura 2 é mostrado um esquema de estrutura, composição e organização de um solo.

Figura 2 - Esquema da estrutura, composição e organização de um agregado de solo.



Fonte: Domingues et al, 2013.

A presença de grupos microbianos específicos em cada um dos micro-habitat do solo causa características particulares de cada um tipo de solo destas microrregiões. A literatura descreve alguns mecanismos de interação entre os microrganismos e as partículas do solo, sendo um dos principais, a produção de polissacarídeos extracelulares, de origem bacteriana, que interagem com as partículas de argila, promovendo a adesão das células microbianas às partículas de solo [58]. Outra substância pode possuir estas mesmas propriedades, porém produzida por fungos micorrízicos arbusculares é a glomalina, que é uma glicoproteína que atua na adesão das partículas dos agregados do solo entre si e constitui uma forma de sequestro de carbono [58].

A heterogeneidade do solo também se dá em relação à disponibilidade de nutrientes. De maneira geral, o solo é um ambiente caracterizado pela oligotrofia (baixa disponibilidade de nutrientes), mas apresenta a ocorrência de "hot spots", que são zonas que possuem uma elevada atividade biológica devido à presença de fontes nutricionais biodisponíveis [8]. Alguns exemplos de "hot spot" do solo são zonas de acúmulo de matéria orgânica e as frações do solo mais próximas à raiz das plantas, conhecidas como rizosfera (região do solo que sofre intensa influência da exsudação radicular). É nesses "hot spots" que a maior parte da vida se desenvolve no solo. Há presença de formas de vida em toda extensão do solo, porém é nessas áreas que os seres vivos se tornam mais abundantes e ativos [46].

A diversidade microbiana encontra-se diretamente relacionada com um conjunto de fatores abióticos (atmosfera, temperatura, água, pH, potencial redox, fontes

nutricionais, entre outros) e bióticos (genética microbiana, a interação entre os microrganismos, entre outros) que permitem o desenvolvimento microbiano e a estruturação da comunidade viva dos solos. A interação entre esses fatores influencia diretamente a ecologia, a atividade e a dinâmica populacional de microrganismos no solo [8].

#### 4. Materiais, métodos e técnicas de pesquisa

#### 4.1 Estudo bibliométrico

Estudo bibliométrico foi realizado e possui intuito de identificar e analisar artigos que abordaram o tema sobre compostagem e/ou sobre a quantificação e avaliação de conteúdo de micro e macronutrientes em insumos com potencial (bio)fertilizante a partir de uma biomassa de resíduos agroindustriais e/ou identificação dos microrganismos do solo (microbiota) que pode ser realizado por técnicas genômicas a partir da extração de DNA dos microrganismos de solo e (bio)compostagem.

O levantamento das pesquisas relacionadas à logística reversa e resíduos sólidos nas atividades agrossilvipastoris e agroindustriais podem retratar o quadro atual da produção científica na tratativa desse tema de reciclagem e produção de (bio)compostos.

Dentre os trabalhos selecionados para citação, a escolha foi baseada em buscas de arquivos científicos que abordassem em algum momento temporal e extensão a metodologia de "compostos orgânicos produzidos de resíduos sólidos provenientes do setor agroindustrial e/ou conteúdos/problemáticas recorrente de fungos e bactérias presentes nos mesmos".

Pode-se, assim, identificar métodos específicos referentes ao tema para embasamento teórico do assunto para avaliação da tipologia, impactos e possíveis soluções para o produto final.

Na Tabela 1 pode-se identificar a quantidade de artigos que tratam ou relacionam o tema proposto no trabalho.

**Tabela 1.** Palavras chaves (em inglês) utilizadas e resultados da análise bibliométrica.

Descritor Primário	Descritor Secundário	Descritor Terciário	Ano	Base	Qnt.
Composting	Microorganism	-	Qualquer ano	Web Of Science	199
Composting	Microorganism	-	2018-2023	Web Of Science	89
Composting	Microorganism	DNA	Qualquer ano	Web Of Science	10
Composting	Microorganism	DNA	2018-2023	Web Of Science	3

Composting	agro-industrial waste	-	Qualquer ano	Web Of Science	106
Composting	agro-industrial waste	microbiota	Qualquer ano	Web Of Science	4
Composting	Biofertilizers	-	Qualquer ano	Web Of Science	36
Composting	Biofertilizers	Microorganism	Qualquer ano	Web Of Science	3

A cada adição de palavras chaves sobre os assuntos em específico, obtinha-se menor quantidade de trabalho em relação ao tema abordado que o torna ainda mais interessante a pesquisa.

Trabalho de Pascual, JA; Ros, M; Fernandez, P; Bernal, A; Lacasa, A [45] demonstraram que resultados da utilização dos compostos orgânicos é uma das alternativas viáveis para melhoramento, condicionamento e fertilidade de solos, nos aspectos físicos, químicos e biológicos; este produto rico em matéria orgânica pode conferir importante valor adicional aos biofertilizantes, insumos e/ou biopesticidas em agricultura ecológica e/ou onde nenhum produto químico sintético pode ser utilizado. Como consequência do estudo, ao propor soluções para uso dos resíduos, solucionar de maneira adequada a destinação final e, buscando esclarecer as particularidades do meio ambiente e/ou suas relações intrínsecas.

Embora a prática de compostagem de resíduos para usos como (bio)fertilizantes tenha aumentado nos últimos anos, pouco se sabe sobre os microrganismos responsáveis, suas interações, dinâmicas e transformações físico-químicas e biológicas no produto e/ou que ocorrem no composto durante o processo da biocompostagem para produção de biofertilizantes e outros insumos que podem ser produzidos pelos processos e/ou características da microbiota nativa ou obtida por processos de competição; além do valor e aplicação residual desses materiais como um substrato de colonização de microrganismos e suas interações com a microbiota do solo, vantagens ou desvantagens.

Um conjunto interessante de palavras chaves pode ser discutida quando pesquisamos sobre "composting, biofertilizers e microbiota". Pode-se encontrar apenas 3 (três) artigos relacionados na Tabela 2, e também pela pesquisa, "composting, agro-industrial waste e microbiota" também se tem um número muito reduzido de artigos acadêmicos ou tecnológicos disponível na literatura. A Tabela 2 apresenta os resultados das pesquisas relacionados às 3 (três) palavras-chaves supracitadas:

**Tabela 2.** Revistas e artigos encontrados referentes às pesquisas com as palavras chaves.

Autor	Revista	Título	Pesquisa	Ano
Marks, EAN (Marks, Evan A. N.); Minon, J (Minon, Jorge); Pascual, A (Pascual, Ana); Montero, O (Montero, Olimpio); Navas, LM (Manuel Navas, Luis); Rad, C (Rad, Carlos).	Science of the total environment.	Application of a microalgal slurry to soil stimulates heterotrophic activity and promotes bacterial growth	composting, biofertilizers e microbiota	Dez 2017
Sorlini, C	Annali Di Microbiologia Ed Enzimologia	Biotechnological use of microorganisms in agriculture production and environment protection	composting, biofertilizers e microbiota	Jan 1996
Kowalchuk, GA; Naoumenko, ZS; Derikx, PJL; Felske, A; Stephen, JR; Arkhipchenko, IA.	Applied and Environmental Microbiology	Molecular analysis of ammonia-oxidizin g bacteria of the beta subdivision of the class Proteobacteria in compost and composted materials.	composting, biofertilizers e microbiota	Feb 1999
Bernardi, Francieli H; Costa, Monica S. S. de M; Costa, Luiz A. de M; Damaceno, Felippe M; Chiarelotto, Maico.	Engenharia Agrícola	Microbiological activity during the composting of wastes from broiler productive chain	Composting, agro-industri al waste e microbiota	Set 2018
Bhat, Sartaj Ahmad; Singh, Jaswinder; Vig, Adarsh Pal.	Waste And Biomass Valorization	Earthworms as Organic Waste Managers and Biofertilizer Producers	Composting, agro-industri al waste e microbiota	Jul 2018
Blaya, Josefa; Marhuenda, Frutos C; Pascual, Jose A; Ros, Margarita.	PLOS ONE	Microbiota Characterization of Compost Using Omics Approaches Opens New Perspectives for Phytophthora Root Rot Control	Composting, agro-industri al waste e microbiota	Ago 2016

De Corato, Ugo; Salimbeni, Rocco; De Pretis, Agostino; Patruno, Luigi; Avella, Nicola; Lacolla, Giovanni; Cucci, Giovanna. Microbiota from 'next-generation green compost' improves suppressiveness of composted Municipal-Solid-Waste to

soil-borne plant pathogens.

Biological Control

Composting, agro-industri al waste e microbiota

A pesquisa mostrou poucos estudos encontrados relacionando o assunto em questão, como pode ser visto na Tabela 2, tornando o tema ainda mais promissor, podendo produzir contribuições ao tema de pesquisa.

A seleção da base de dados foi conduzida seguindo as métricas internacionais de publicação científica, sendo a *Web of Science* a escolhida por apresentar informações quali-quantitativas como as geográficas, além de outras métricas que esta base de dados fornece, quer por área de pesquisa, periódicos, editoras etc.

Nos estudos foram selecionadas as métricas de volume de artigos publicados dentro de um período de 43 anos (1980 a 2023), além dos países que mais publicaram e as categorias de áreas de pesquisa do próprio *Web of Science*. E, devido à base de dados ter um impacto internacional na divulgação dos estudos selecionou-se o idioma inglês, por ser um idioma reconhecido e de comunicação pela comunidade científica.

A seleção deste período de tempo se deu devido a década ser palco da criação da Comissão Mundial sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento (CMMAD), 1983, conhecida como a Comissão Brundtland, designada para realizar audiências ao redor do mundo e produzir relatório formal com suas conclusões.

O relatório final da Comissão - "Nosso Futuro Comum" (Our Common Future), propôs o conceito de desenvolvimento sustentável como sendo "o desenvolvimento que atende às necessidades das gerações presentes sem comprometer a capacidade de gerações futuras de suprir suas próprias necessidades", tornando-se parte do vocabulário ambiental. (CASTELLA; AGRÔNOMO, 2016)

#### 4.2 Análises quali-quantitativa

A análise de similaridade bibliométrica foi realizada com o objetivo de analisar de forma qualitativa sobre o conteúdo dos artigos que continham familiaridade com o tema da dissertação.

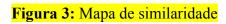
Através das análises expostas pela base de dados *Web of Science*, pode-se analisar os resultados como os tópicos, títulos dos artigos, palavras-chave, palavras-chave adicionais, resumo e categorias do *Web of Science*, no formato de documento de texto e analisado pelo *VoSViewer* versão 1.6.19 de 2023 obteve-se os mapas de similaridade entre os artigos através do uso de palavras mais frequentes. Os mapas bibliométricos expõem, de forma sistemática, as palavras mais frequentes nos textos através de gráficos que podem ser no formato de bolhas, densidade (zona de calor), densidade por clusters e por dispersão.

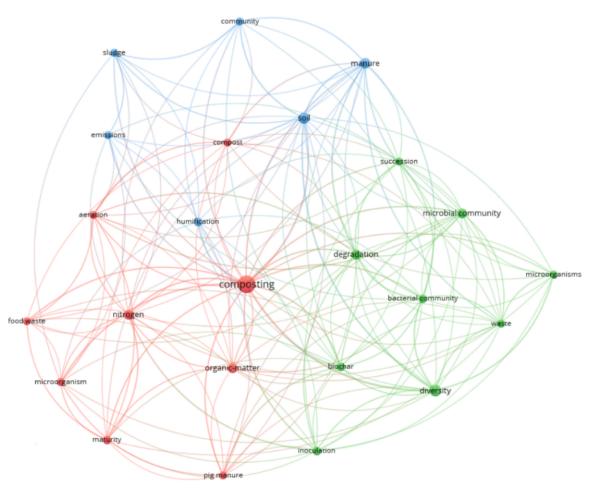
Estas imagens gráficas demonstram através da intensidade das cores ou tamanhos de bolhas a palavra mais frequente e, quando utilizado os gráficos de bolhas ou de imagem de dispersão, também mostraram suas conexões e pertinências [18].

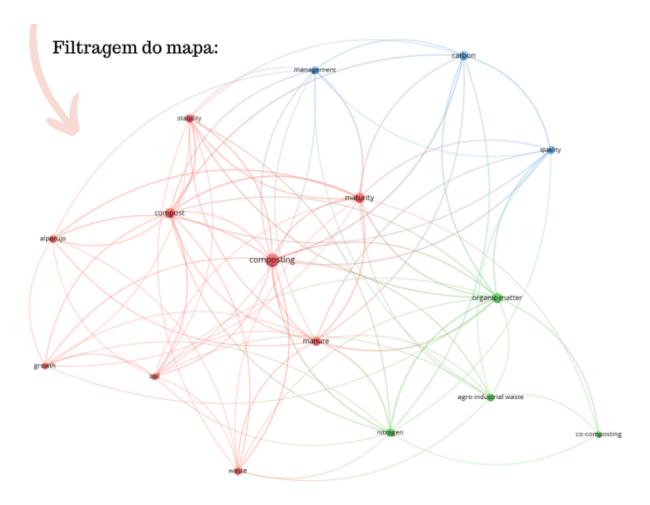
Nesta etapa do estudo, os artigos encontrados através das palavras-chaves foram inseridos em planilha composta por informações como: Nomes dos autores; Títulos dos artigos; Periódicos; Idiomas; Tipos de publicação; Palavras-chave; Palavras-chave adicionais; Resumo; Endereços; Instituições de pesquisa; Ano de publicação; Número de citações; DOI; Categorias do *Web of Science*.

Todas essas informações foram utilizadas para uma análise de similaridade bibliométrica proposta por [18] [54]. A análise de similaridade bibliométrica foi realizada através do software *VoSViewer* versão 1.6.19 de 2023, por ser um programa livre que desenvolve mapas das palavras mais frequentes nos textos analisados e suas conexões.

Foram gerados gráficos sobre o volume de pesquisas realizadas em cada ano do período pesquisado, 1980 a 2023. Além dos gráficos de pesquisa por ano, também foram gerados mapas globais com a exposição dos países que mais realizam estudos dentro de cada grupo de descritores, onde o volume de publicações é indicado pela intensidade da cor. Na Figura 3 temos os resultados e as interações entre as palavras-chaves.







Fonte: próprio autor, gerado a partir da plataforma VOSViewer®.

O mapa de similaridade nos mostra as distâncias entre as palavras pesquisadas, representadas pelas linhas que unem as esferas e indicam o nível de interação e proximidade entre elas. Nota-se uma densidade dessas linhas, formando uma teia de correlação ou pertinência.

#### 4.3 OCA Ambiental

A empresa é especializada na gestão integrada de resíduos urbanos e industriais, na qual, executa serviços de gerenciamento, produção de compostagem, reciclagem, acondicionamento, coleta, tratamento e destinação final ambientalmente adequada dos resíduos – Classe I, II-A e II-B. A empresa surgiu através do avanço industrial e urbano na região do Mato Grosso do Sul. Desde sua origem se respaldada por documentos legais, normas técnicas, resoluções e leis para uma boa gestão e execução dos serviços. A OCA Ambiental está localizada no Endereço: Rodovia MS-156 km 12 a esquerda - CP 18 Zona Rural, Dourados - MS, 79849-899. Mostra-se a localização na Figura 4:

Oca aterro sanitario
Rua de acesso >

OCA A

Dourados
Maio sirosso do Sul
-22.310639,-54.740746

Figura 4. Localização da OCA Ambiental Ltda.

Fonte: Google maps.

O surgimento da empresa está relacionado ao objetivo promover um serviço especializado de qualidade na gestão dos resíduos sólidos urbanos e industriais, com o intuito de contribuir com desenvolvimento econômico, social e ambiental do Mato Grosso do Sul e adjacências. A empresa atualmente encontra-se em franca expansão, tendo como meta a busca e agregação de tecnologias sustentáveis para a recuperação, reciclagem e destinação final dos resíduos sólidos processados e/ou produtos do processamento, de forma a gerar emprego, renda e desenvolvimento sustentável para a região. O tipo e/ou informações resumidas dos resíduos recebidos pela empresa são descritos a seguir.

#### 4.4 Procedimentos utilizados nas análises em laboratório: metodologia

A metodologia empregada no trabalho está em anexo a página. Nela contém a técnica de coleta de dados e a preparação das informações.

#### 4.5 Análise de diversidade microbiológica: análise molecular

A extração do DNA de três amostras de solo foi realizada utilizando o DNA ISOLATION KIT (MOBIO LABORATORIES), de acordo com as instruções do fabricante.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho em Ciências da Vida (LaCTAD) da UNICAMP.

Foi realizado o PCR para a amplificação das regiões V3 e V4 do gene 16S ribossomal para análise de diversidade de bactérias. Também foi realizado a amplificação por PCR das regiões ITS1 e ITS2 para análise da diversidade de fungos.

A concentração do DNA foi verificada através do sistema TapeStation 2200 da Agilent. O sequenciamento do DNA foi realizado por meio da tecnologia Illumina, através do sistema Hiseq 2500.

#### 4.6 Análises de bioinformática

A qualidade do sequenciamento foi aferida utilizando o programa FastQC, filtrando-se sequências de baixa qualidade ou muito curtas (< 50 pares de bases) através do programa Prinseq-lite (SCHMIEDER, 2011)

Posteriormente os dados foram analisados realizando a montagem das sequências, agrupamento e classificação taxonômica pelo programa Qiime2 (BLOLYEN, EVAN 2019) na plataforma Galaxy (AFGAN, Enis, et al. 2022).

Os gráficos da classificação taxonômica e análise de rarefação foram gerados através do programa Megan (HUSON, Daniel H. et al.2018).

# 5. Informações, tipo e análises físico-químicas de resíduos agroindustriais coletados

#### 5.1 Terra Diatomácea

É o material que resulta da fossilização das algas unicelulares revestidas com uma camada de sílica. Estas algas denominam-se diatomites e apresentam um exoesqueleto de origem mineral (sílica). O nome terra de diatomáceas tem origem no tipo de algas que as constituem, as diatomites, que apresentam um exoesqueleto à base de sílica. Sua coloração geralmente irá ser representada pela característica do local onde a mesma foi retirada, variando entre branca, creme, cinza, esverdeada, entre outras.

Considera-se 2 (dois) tipos de terra de diatomáceas: 1) terra de diatomáceas calcinada e 2) grau alimentício (conhecida como orgânica). A terra de diatomáceas calcinada, indica que foi exposta a elevadas temperaturas com transformações resultados do tratamento térmico. O processo de aquecimento (calcinação) converte a sílica amorfa que rodeava as algas em sílica cristalina. Ao contrário da calcinada, de grau alimentício não sofreu nenhum processo térmico em que se tenha alterado a sua composição, a sua estrutura continua amorfa, ou seja, não é cristalina. O silício

orgânico que contém foi processado pela alga e não há problemas para manuseio e/ou utilização.

Dentre os constituintes que compõe a terra diatomácea destaca-se a sílica opalina e outros componentes como o alumínio (Al), ferro (Fe), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), potássio (K), dentre outros elementos em menor proporção (França et al., 2008). Os minerais co-depositados, denominados de minerais secundários, também são encontrados, destacando-se os argilominerais, areia quartzosa, gipsita, mica, calcita, feldspato e carbonatos de cálcio e magnésio, além de impurezas como matéria orgânica (MO) (Souza, et al., 2003; França, et al., 2008).

As aplicações pelas indústrias requerem que a diatomita tenha um elevado grau de pureza e inércia para que não haja interferência nas propriedades dos produtos como cor e sabor (França, et al., 2005).

No material recebido e utilizado na OCA Ambiental pode-se perceber que a terra diatomácea passou por uma espécie de oxidação/adsorção, onde a cor foi alterada para uma coloração mais escura. Possivelmente, se deve ao fato de a mesma passar por um processo de filtragem de óleo de soja. O óleo tem na composição as clorofilas, moléculas de ácidos graxo entre outros produtos de cor que podem adsorver e/ou oxidar na superfície do material. A terra diatomácea no processo de filtragem do óleo pode ainda possuir partículas menores, o que acaba por originar a mesma cor dos compostos que estão presentes e ao ficar saturada com material orgânico derivado do processo pode alterar cor e conter resíduos dos materiais resultantes do processo de filtração.

Em tese, existem vários meios de utilização da terra diatomácea, porém, o que é usado para filtragem é uma espécie de carapaça de cálcio (arcabouço estrutural poroso) que se forma das bactérias de fundo de oceano. Então, esta casca de acúmulo que provem dos oceanos, é moída, sendo utilizada para este meio. O processo de filtragem usando a terra diatomácea é de uso único e ocorre pela elevada permeabilidade e da capacidade de retenção do material sólido por adsorção e absorção entre as partículas de terra diatomácea. O resto do material que sobra desta filtragem é recebido pela OCA Ambiental, onde a mesma é revolvida nos materiais compostos na leira.

#### 5.2 Cinzas de caldeira

O resíduo mineral recebido pela OCA Ambiental possui origem na BRF AS – Abatedouro Frangos, localizada na Rua Waldomiro de Souza, nº 295 - Vila Industrial, Rodovia BR 463, Km 04, Dourados. MS.

O produto possui na composição minerais e porosidade por ativação térmica, atividade superficial e até cargas isoelétricas, em geral, a composição consiste em uma mistura de elementos minerais oxidados, areia e carbono orgânico parcialmente oxidado. Resumidamente, as cinzas representam uma fração inorgânica da biomassa e agrega elementos que não são relevantes nas reações de combustão, como o fósforo, o potássio e o cálcio, mas que possui importância agroindustrial como elemento filtrante, fonte de sílica e composição de sólidos totais.

As cinzas são materiais complexos, de composição química e morfológica heterogênea a depender da origem. Normalmente, podem vir da queima de eucalipto, ou seja, de biomassa vegetal. Conforme Moro & Gonçalves (1995), a cinza funciona como agente melhorador das características químicas do solo, neutralizante, substrato adsortivo e fonte de micro e macronutrientes para as culturas, principalmente, de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) e outros elementos em menores proporções.

Por outro lado, no processo industrial as cinzas são resíduos que apresentam um alto conteúdo de minerais alcalinos que juntamente com a sílica, podem se fundir e/ou depositar nas paredes diminuindo a eficiência das caldeiras, causando desgaste nos equipamentos ou provocando acidentes (Mckendry et al., 2002; Grover et al., 1996), por isso ele deve ser retirado e a destinação final pode ser promissora para diferentes usos tecnológicos, incorporações ou como neutralizante de acidez.

A cinza é rica em sais de potássio (K), dependendo da origem varia de 0.5 a 5.0% no teor de K<sub>2</sub>O. O teor de cinza presente nos materiais fornecidos pela OCA mostrou um teor mineral de 63,3%. A determinação de cinzas permite verificar o conteúdo de materiais inorgânicos. A perda de massa fornece o conteúdo de matéria orgânica (MO). A diferença entre o peso original da amostra e o peso final fornece uma estimativa do conteúdo de matéria orgânica ou ainda quantidade de cinzas presente nos resíduos.

#### 5.3 Carvão vegetal

Dentre os resíduos recebidos há carvão vegetal, apresenta-se como uma forma estável de material orgânico e quando aplicado ao solo na forma de fragmentos muito pequenos, promove a adsorção de íons e compostos orgânicos solúveis. Além disso, sua estrutura porosa pode contribuir positivamente para a retenção de água, como também proporcionar um habitat favorável para os microrganismos do solo.

O carvão vegetal é produzido a partir da madeira (e.g. acácia negra, eucalipto) pelos processos de carbonização ou pirólise<sup>1\*</sup> em concentrações baixas e ou limitantes de oxigênio, no entanto, sem controle rigoroso da temperatura (que podem variar entre 250°C a 400°C durante o processo). Essa variação na temperatura leva a uma maior heterogeneidade na composição química e estrutural deste produto [54].

A mistura orgânica (compostagem), argila e carvão possuem a capacidade absortiva e absortiva para retenção e disponibilização de micro e macronutrientes, além de proporcionar uma dinâmica própria do solo com inúmeras cavidades/porosidades de dimensões microscópicas, onde se depositam água, ar e nutrientes; modificando a estrutura, pode-se melhorar a aeração, permeabilidade e retenção de água no solo que são importantes para a microbiota de solo.

Esses micros espaços interconectados são locais eficazes para o habitat dos microrganismos, tais como, rizóbium e micorrizas, importantes na captação de nitrogênio (N) e fósforo (P), portanto, o carvão e os constituintes cumprem a função de criar um ambiente propício para contenção, colonização, manutenção e desenvolvimento de microrganismos no produto e microbiota de solo, além da estabilidade na físico-química e biológica que permitem aos solos por sua dinâmica físico-química e biológica, associados ou não a outros constituintes da (bio)compostagem.

## 6. Comunidades microbianas dos sistemas de (bio)compostagem

A determinação da diversidade microbiana pode permitir potenciais funcionalidades/aplicações, insumos e produtos microbiano para o solo e/ou ainda aplicações específicas na pesquisa devido as possibilidades de aplicações biotecnológicas, funcionais e/ou interações nos solos. A diversidade microbiana pode ter importante papel na manutenção da qualidade dos solos. Organizando-se de forma

-

<sup>&</sup>lt;sup>1\*</sup> A pirólise é uma tecnologia de conversão térmica que ocorre na ausência completa ou quantidade mínima de agente oxidante. Esse processo ocorre a uma temperatura que varia desde os 400°C até 900°C.

previsível em diferentes condições edáficas ou em resposta a diferentes distúrbios. As comunidades microbianas podem ainda ser consideradas indicador de qualidade. Estes microrganismos são representados por bactérias, fungos, arquéias, algas, protozoários e a microfauna. Podem ainda serem compostos por vírus, parasitas intracelulares obrigatórios, que desempenham funções importantes no controle das populações que colonizam os solos. Assim, a manutenção da biodiversidade de microrganismos no solo é importante e pode ser considerado um ecossistema para a agricultura, produção de alimentos e regulação do clima. A conservação e manutenção da microbiota do solo está associada a fertilidade, sustentabilidade agrícola e produtividade dos agroecossistemas.

Artigos e/ou comunicações que tratam do metagenoma do solo estão sendo publicadas. Porém, a detecção de um gene no solo não significa que a função relativa esteja expressa, e a presença viva ou viável de um determinado táxon, além de não significar que as funções relativas determinadas em cultura também possam ocorrer no solo estudado, mas pode ser sempre evidências da presença, participação e/ou funcionalidade ou interações que ocorrem nestes microssistemas.

No estudo a extração de DNA e análise da microbiota pode permitir a compreensão destas funcionalidades e interações, principalmente, para as funções do solo apresentadas pelas amostras por medições dessa diversidade biológica existente (microbiana).

Considerando que a análise metagenoma de amostras de solo depende do sequenciamento completo do DNA extraído dessas amostras, a amplificação de genes marcadores e o sequenciamento subsequente podem sofrer vieses introduzidos pela etapa de amplificação (Scholer et al., 2017).

Os microrganismos que habitam o solo realizam diferentes reações e envolvem interações ecológicas que influenciam as funcionalidades dos solos desde a microescala até a escala da paisagem. A diversidade microbiana e as características funcionais associadas no solo são consideradas altamente dinâmicas no tempo e no espaço, respondendo a fatores naturais ou a perturbações antropogênicas induzidas pelo homem (Nannipieri et al., 2003, 2017a, b) e uma avaliação abrangente do microbioma do solo é ainda um dos maiores desafios nas ciências da vida devido a sua alta complexidade.

Com aplicação de técnicas independentes de cultivo, baseadas em (bio)moléculas como DNA para a avaliação do microbioma do solo e introduzida na década de 1980 (Torsvik et al., 1990), pode-se considerar a capacidade de descrever,

pelo menos partes, a enorme diversidade cultivada nos solos. Por uso dessas abordagens pode-se aprender, por exemplo, que milhares de diferentes espécies bacterianas e outras estão presentes em apenas 1g de solo; assim, isso se deve obviamente ao enorme número de diferentes nichos e interações ecológicos no solo (Nannipieri et al., 2003).

O uso de DNA como molécula marcadora permite avaliar a diversidade microbiana de amostras de solo e até de biocompostos que podem fornecer uma resolução mais alta na taxonomia microbiana do que outras técnicas (por exemplo, análise de ácidos graxos fosfolipídicos (PLFA) para análise da segurança biológica. Apesar de no início da "era molecular" a ecologia microbiana do solo, as técnicas de impressão digital genética fossem utilizadas para uma resolução limitada, por introdução de sequências genômicas.

No processo utilizado no trabalho o método utilizado no laboratório para fazer as análises foi manual por uso do PowerSoil DNA Isolarions Kit - Catalog No. 12888-50 & 12888-100. O kit é projetado para processar 0,25 gramas de solo como amostra. Mas, considerado eficaz na remoção de inibidores de PCR até mesmo dos tipos de solo mais difíceis de analisar.

Na extração as amostras ambientais são adicionadas a um tubo de batimento de esferas para uma homogeneização rápida e completa. A lise celular ocorre por métodos mecânicos e químicos. O DNA genômico total é capturado em uma membrana de sílica em um formato de coluna giratória. O DNA é então lavado e diluído da membrana e estocado pronto para análise de PCR e outras aplicações a jusante.

## 6.1 Contagem de microrganismos: Técnicas de cultivo de bactérias e fungos em meios de cultura

Amostras contendo microrganismos quando cultivadas em meios de cultura que possuam os requisitos nutritivos e em condições ambientais favoráveis, propiciam o início do desenvolvimento destes microrganismos no meio especificado. Em microbiologia, há várias técnicas de isolamento de microrganismos (fungos e bactérias) e, algumas são utilizadas para recuperação de microrganismos a partir de amostras de solo e sedimentos, outras de amostras de água, rios e lagos ou de amostras de animais, plantas, superfícies, entre outras.

### 6.2 Homogeneização e diluição seriada da amostra utilizada

Esta técnica é útil para a recuperação de microrganismos presentes em solos e sedimentos, bem como outros substratos similares. Para cada 10g de amostra foram adicionados 90 ml de solução salina de 0.9% (p/v) NaCl (diluição 10<sup>-1</sup> ml) e a amostra hidratada é em seguida colocada sob agitação por cerca de 10 minutos. Após esse período, uma alíquota de 1,0 ml da amostra é retirada e transferida para 9 ml de solução salina (diluição 10<sup>-2</sup> ml). Este procedimento foi repetido sucessivamente, visando obtenção de diferentes diluições (10<sup>-3</sup> ml, 10<sup>-4</sup> ml), as quais serão inoculadas nos meios de cultivo apropriados utilizando a técnica de semeadura *Pour-Plate* (derramamento na placa) como mostra na Figura 5.



Figura 5: Técnica de semeadura *Pour-Plate*.

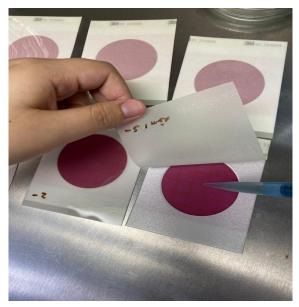
Fonte: autor.

Para a contagem de microrganismos, é necessária uma diluição seriada da amostra em solução salina e em seguida plaqueamento dessas diluições, ficando da seguinte forma:

- 1) em Petrifilm para contagem de E.*coli* e Coliformes (EC), sendo o propósito de fazer a contagem de coliformes totais, ocorrendo a diferenciação entre os outros coliformes e a E.coli por cor da colônia (azul pra E.*coli* e vermelho para os demais);
  - 2) em meio PCA (contagem de bactérias heterotróficas),
  - 3) em meio BDA (contagem de leveduras e fungos filamentosos).

A técnica de Spread Plate utilizada nos meios PCA e BDA, consiste em semeadura de 1ml do material na placa estéril vazia e depois adicionado o meio de cultivo por cima e homogeneizado com movimentos circulares. (Figura 6).

Figura 6: Técnica de semeadura em placa.



Fonte: autor.

As Placas 3M<sup>TM</sup>Petrifilm<sup>TM</sup> para contagem de *E.coli* e coliformes (EC) contêm nutrientes do meio Vermelho Violeta Bile (VRB), agente gelificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glicuronidásica e um indicador que facilita a enumeração da colônia. A maioria das *E.coli* (cerca de 97%) produz beta-glicuronidásica na qual forma um precipitado azul associado a colônia e identificando-a. O filme superior retém o gás formado pelos *coliformes* e *E.coli* que são fermentadores de lactose. Cerca de 95% das *E. coli* produzem gás indicadas pelas colônias azuis a vermelho-azuladas, associadas ao gás retido na Placa Petrifilm EC (dentro de, aproximadamente, o diâmetro de uma colônia).

A AOAC INTERNATIONAL e U.S FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM) definem coliformes como bacilos gram-negativos produtores de ácido e gás a partir da lactose durante a fermentação metabólica. As colônias de coliformes que crescem na Placa Petrifilm EC produzem ácido, fazendo com que o indicador de pH torne a cor do gel vermelho mais escuro. O gás retido ao redor das colônias vermelhas de coliformes indica coliformes confirmados.

# 7. Espaço utilizado para produção da biocompostagem e informações adicionais ao desenvolvimento da temática

Os benefícios para o uso de resíduos agroindustriais, produção de (bio)compostagem e redução dos impactos ambientais por mitigação de efeitos podem ser percebidos. Os efeitos ambientais mitigados podem ser percebidos quando uma região passa a desenvolver o processo de compostagem com operação e controle

adequados. Em princípio, ocorre uma redução na geração de produtos lixiviados, que preserva a qualidade das águas subterrâneas, e metano, gás com alto potencial de aumentar o efeito estufa formado quando a decomposição da matéria orgânica ocorre em ambiente anaeróbio (RISSE; FAUCETTE, 2009).

Afim de uma solução para parte desses problemas no município, a OCA Ambiental, recebe diversos resíduos agroindustriais de empresas da região para processamento. Massukado (2008) mostra que a vida útil de um aterro sanitário é aumentada quando uma parcela da fração orgânica processada deixa de ser depositada no mesmo aterro e a produção de biocompostagem pode ser uma forma alternativa de tratamento dos resíduos agroindustriais, por exemplo.

A compostagem pode ser realizada com diferentes matérias primas, como resíduos domiciliares, resíduos verdes (lignocelulósicos) (manutenção de parques e podas da arborização urbana), resíduos alimentares de indústrias e comércio e lodo do tratamento de esgoto e muitos outros resíduos de diferentes procedências (CESTONARO, 2018).

Contudo, a compostagem pode apresentar algumas desvantagens como possível atração de animais indesejados pelo acúmulo e tratamento dos resíduos e/ou a geração de maus odores, somadas ao fato de que caso não seja uma a metodologia de operação realizada da forma adequada o produto final pode ser um material de baixa qualidade sem aceitação no mercado e/ou ter a falta de apoio da comunidade local.

No Brasil a concepção inadequada de alguns projetos de reciclagem e compostagem tem comprometido a credibilidade da técnica, que em si são indicadas para o processamento de diferentes tipos de resíduos, incluindo os agroindustriais [8].

Os aterros são espaços de exposição dos resíduos em céu aberto e, devem estar em espaços afastados dos centros urbanos e, preferencialmente, em espaços periurbanos e utilizados para o processamento de resíduos orgânicos ou não para a produção de biocompostagens, por exemplo, na reciclagem dos elementos na produção de adubos e fertilizantes.

No caso da área de compostagem, os resíduos devem ser triturados para acelerar os processos de compostagem nas leiras porque quanto menor a partícula disponibilizada para o processo de compostagem, maior área de contato e, portanto, mais rápido o processo se desenvolve. O tamanho e a distribuição das partículas de resíduos em processamento biológico pela microbiota decompositora e/ou

insetos/animais e a reviragem das leiras são primordiais para o processamento e a produção da biocompostagem, reduzindo os impactos ambientais da biotransformação dos resíduos agroindustriais.

As leiras/montes devem ser reviradas de forma periódica e por via mecânica para a permeação de oxigênio, água e permitir a sequência das biotransformações nos resíduos por microrganismos (microbiota), insetos e outros cooperadores na obtenção da compostagem. Destaca-se, ainda, que controle de temperatura e umidade devem ser realizados cuidadosamente.

### 7.1 As leiras de (bio)compostagem

Os resíduos ou materiais utilizados durante o processo de compostagem são denominados "massa de compostagem" e, são dispostos em estruturas em formatos de cone ou leiras, a depender da quantidade de resíduo gerada, para o processo de biocompostagem [47]. O sistema utilizado na OCA Ambiental é por produção de fileiras de leira de baixa altura e quantidade controlada de resíduos agroindustriais que correspondem a um lote.

As leiras dos resíduos agroindustriais são montadas no período/época de chuva devem ter o formato triangular, que contribui para minimizar a entrada excessiva de água no interior da mesma. Nas épocas/períodos secos as leiras são montadas em geometria com formato trapezoidal para facilitar a entrada de água para as partes internas, ondem ocorrem as biotransformações dos resíduos agroindustriais. As leiras com largura de 3 m a 4 m e altura de 1,0 m a 1,5 m tem mostrado facilitar o manejo durante o reviramento mecânico. O comprimento das leiras é variável de acordo com o espaço disponível no aterro, mas, normalmente possuem de 20 a 50m [43]. Na OCA Ambiental é utilizado o método triangular, pois a chuva não influencia as biotransformações de forma significativa como interferentes do processo de biocompostagem.

Pode-se mostrar algumas vantagens no reaproveitamento dos resíduos agroindustriais orgânicos e inorgânicos recebidos no aterro sanitário. Nos aterros as empresas recebem de diferentes origens materiais ricos em nutrientes para reciclagem e produção de biocompostos que podem ser utilizados na produção agrícola, permitindo conscientização de indivíduos e empresas para valorar os resíduos agroindustriais de diferentes portes na biotransformação com reduzidos efeitos para o meio ambiente,

produção de produtos e/ou insumos para a melhoria na fertilidade do solo, geração de renda/empregos para região, melhora na qualidade do ar, diminuição significativa da quantidade de descarte de resíduos nos aterros e lixões a céu aberto. Pode-se até considerar que a quantidade de aterros e lixões poderão diminuir ao longo do tempo devido à preocupação com o tratamento ou reciclagem desses materiais, permitindo a proposta de soluções para conhecimento e/ou padronização dos resíduos recebidos nos aterros por análises laboratoriais, caracterizações e a avaliação do potencial dos resíduos agroindustriais recebidos e/ou análises da sazonalidade e disponibilidade dos mesmos para padronização de processos, produtos e análise da composição de formulações/volume de matéria orgânica para a biocompostagem na produção de biofertilizantes, insumos e outros de forma padronizadas para culturas vegetais de MS.

Pode-se, assim, demonstrar os beneficios supracitados sobre este tema/área explorada pelo trabalho. O aproveitamento de resíduos agroindustriais, o uso dos espaços de aterro, padronização de processos e produtos/insumos podem ser demonstrados pelo estudo no reaproveitamento dos resíduos em soluções práticas para empresas de reciclagem em questão devido o espaço, economia, contribuição e qualidade do biocompostos e/ou insumos produzidos, considerando a disponibilidade e quantidade de resíduos agroindustriais e a aplicabilidade local.

Mas, por outro lado, há algumas desvantagens e/ou críticas ao processo de biocompostagem e processamentos pela demanda de espaço físico, tempo, custo inicial e produtos residuais do processo como odor, riscos de manuseio e segurança biológica desses produtos que requerem monitoramento contínuo de temperatura, umidade e até a presença de patógenos no processo e/ou produto que podem dificultar o processamento dos resíduos agroindustriais para a produção dos biocompostos.

No aspecto da biossegurança biológica, os riscos devem ser minimizados nos processos e produtos resultantes. Os patógenos que podem incluir fungos e bactérias que são encontradas durante os estágios iniciais. A composição microbiana das fases do composto pode mudar com base no aumento da temperatura e disponibilidade de diferentes substratos orgânicos disponíveis.

Neste aspecto, há também desafios a serem resolvidos. Existe um problema ocorrendo quanto a padronização do composto produzido pela OCA. Periodicamente são feitas análises dos teores de resíduos agroindustriais para avaliação da qualidade das matérias primas utilizadas (na composição de micro e macronutrientes) para

formulações bases e/ou realização de substituições/modificações nas formulações. Para que assim ocorra uma garantida a segurança biológica do biofertilizantes proposto nesta dissertação, onde sua aplicação ocorra de forma isolada ou combinada em culturas de MS.

As matérias primas disponíveis para as biocompostagem recebidas pelo aterro são, normalmente: terra diatomácea (argila), farelo de soja, farelo de milho misturado com componentes de ração animal, resíduos da limpeza de milho, resíduo de incubatório de aves e outros, vísceras de frango, resíduo estomacal e vísceras de suínos, carvão e outros. Estes resíduos precisam de caracterizações, no momento não existe. A empresa receba a matéria prima de forma constante e aleatória. Para que não afete a composição e formulações de produtos finais precisa-se qualificar corretamente a produção de biofertilizantes e/ou insumos para usos e comercialização desses substratos ricos em matéria orgânica (MO), micro e macronutrientes.

A análise das funcionalidades dos resíduos agroindustriais pode permitir detalhar as (bio)funcionalidades dos resíduos como constituintes disponíveis nos aterros, além do material orgânico de compostagem como uma base das formulações e, que cumprem funções físico-químicas e biológicas importantes no solo e nas formulações dos biofertilizantes. Na Figura 7 temos uma imagem da montagem das leiras para a produção dos biocompostos.



Figura 7. Estrutura das leiras em funcionamento.

Fonte: Autor.

### 8. Problemática dos resíduos agroindustriais

Os benefícios e desvantagens do uso desses resíduos agroindustriais foram expostos anteriormente, principalmente, no tocante aos impactos ambientais se os processos de biodegradação não forem adequados. Entretanto, estes riscos e desvantagens podem ser mitigados quando uma região passa a desenvolver o processo de compostagem com operação, controle e procedimentos adequados.

Inicialmente, pode haver uma redução na geração de produtos lixiviados, que pode conservar a qualidade das águas subterrâneas, produção de metano (gás com alto potencial de aumentar o efeito estufa) que podem ser riscos e/ou produtos formados na decomposição da matéria orgânica em ambiente anaeróbicos (RISSE; FAUCETTE, 2009).

Afim de reduzir riscos e propor soluções para parte desses problemas no município de Dourados e região, a OCA Ambiental recebe e processa os resíduos agroindustriais de empresas da região de Dourados, MS.

Massukado (2008) mostra que estes benefícios são mútuos e, que a vida útil de um aterro sanitário pode ser aumentada quando uma parcela da fração orgânica deixa de ser depositada no mesmo, e processada como forma alternativa de tratamento para valoração, redução de riscos e emprego e renda ao entorno da empresa.

A (bio)compostagem pode ser realizada com variadas matérias primas, como resíduos domiciliares, resíduos verdes (manutenção de parques e podas da arborização urbana), resíduos alimentares de indústrias e comércio e lodo gerado no tratamento de esgoto (CESTONARO, 2018).

Contudo, a biocompostagem como produto da reciclagem de resíduos agroindustriais pode apresentar algumas desvantagens como possível atração de animais indesejados, produção de maus odores, somadas ao fato de que caso não seja uma metodologia de operação realizada da forma correta o produto pode ser de baixa qualidade sem aceitação no mercado, com custo-benefício inadequado, ter baixa adesão e apoio da comunidade do entorno. Neste aspecto, a concepção e implantação de unidades de projetos de reciclagem e compostagem no Brasil acabam comprometendo a credibilidade de aplicação dessas técnicas e reciclagem de resíduos [8].

# 9. Monitoramento das leiras de (bio)compostagem com resíduos agroindustriais

### 9.1 Controle de temperatura

No processo de biocompostagem a temperatura é o indicativo de que os microrganismos estão (bio)transformando os resíduos por processos fermentativos, preferencialmente, aeróbicos como uma oxidação controlada dos produtos da biotransformação microbiana.

A temperatura deve ser monitorada, em intervalo de 3 dias, a partir do 5° dia da montagem da leira. O monitoramento pode ser feito utilizando um termômetro com escala de 0°C a 80°C ou até com um pedaço de vergalhão de ferro com diâmetro aproximado de 7,0 mm para análise das biotransformações e necessidade de reviramento dos resíduos. Neste aspecto, tanto o termômetro quanto o vergalhão devem ser introduzidos na leira à profundidade de 50 cm a 1,0 m, e permanece por 5 minutos antes da leitura.

No caso do vergalhão pode deixá-lo na leira ou após o tempo adequado retirá-lo para análise da temperatura ao segura-lo com a mão na parte mediana do mesmo. Se a temperatura for tolerável significa que o processo de compostagem está ocorrendo normalmente. Se estiver de morno a frio, há necessidade de aumentar a temperatura por meio de reviramento. A temperatura da leira nos primeiros 15 a 20 dias atinge de 60 a 70°C, o que é importante e necessário para eliminar patógenos (fungos e bactérias) causadores de doenças nas plantas, sementes, ovos e larvas de insetos. Após esse período permanece na faixa de 45°C a 55°C decrescendo à medida que o material vai sendo humificado até chegar à temperatura ambiente [43].

#### 9.2 Controle de umidade da biomassa em transformação

O controle de umidade e da temperatura no interior da leira é um fator de extrema importância para a vida e eficiência dos microrganismos no processo de biocompostagem. A umidade no interior da leira pode ser feita pelo método de secagem em estufa ou pelo teste da mão. Este teste prático consiste em pegar com a mão um pouco de material do interior da leira e comprimi-lo com bastante força. O ponto ideal da umidade é quando a água começa a verter entre os dedos, sem escorrer. Se estiver muito seco, é necessário adicionar água [43].

Para o monitoramento de temperatura, pode ser feito utilizando termossonda, termômetro com escala de 0 a 80 °C ou com um pedaço de vergalhão de ferro com diâmetro aproximado de 7,0 mm. No caso de usar o vergalhão, este deve ser introduzido

na leira à profundidade de 1 m, devendo permanecer por 5 minutos. Ao retirá-lo, segurar imediatamente com a mão a parte mediana do mesmo. Se a temperatura for tolerável, significa que o processo de compostagem está ocorrendo normalmente, se, no entanto, estiver de morno a frio, haverá necessidade de aumentar a temperatura; neste caso deve-se fazer novo reviramento. A temperatura da leira nos primeiros 15 a 20 dias atinge 60 a 70 °C, o que é importante para esterilização do composto; após esse período, permanece na faixa de 45 a 55 °C decrescendo à medida que o material vai sendo humificado [43].

Figura 8. Verificação da temperatura e umidade das leiras com resíduos agroindustriais nas leiras da OCA Ambiental.



Fonte: autor

## 9.3 Controle de aeração

A aeração e a temperatura correta no interior da leira são necessárias para a sobrevivência e atividade dos microrganismos na biotransformação, sendo a condição básica para haver fermentação aeróbica, preferencialmente. O controle é feito por meio de reviramento e manutenção do teor de umidade adequado, sem encharcamento [43]. Na OCA, este procedimento é utilizado com trator, onde a aeração é feita revolvendo o conteúdo das leiras, esse protocolo é repetido em média a cada 20 dias com uso de equipamento mecânico.

#### 10. Resultados e discussões

A (bio)compostagem foi o processo utilizado para a preparação de (bio)fertilizante por processos de reciclagem de resíduos agroindustriais. Neste aspecto, há poucas informações sobre o processo, variantes e composição. Assim, torna-se necessário a caracterização da matéria prima disponibilizada pela empresa OCA, processos de degradação do material orgânico, comunidade microbiológica e os produtos finais. A empresa recebe os resíduos e os reune a partir das origens agroindustriais da região para mistura, degradação e formulação do (bio)composto. Nestes processos pode-se avaliar o potencial uso da (bio)compostagem e as particularidades referentes ao ambiente de preferência e colonização de microrganismos que atuam na compostagem, ação degradativa da matéria prima a ser compostada, além de preferências de espécies, permanência e/ou competições para se demonstrar a sequência do processo de compostagem e usos, desde a fase fitotóxica até a maturação completa ou humificação do composto esclarecendo seu papel benéfico que o composto pode exercer no solo.

As análises podem lançar luz e/ou determinar as colônias de bactérias, fungos e outros que estão presentes no biocomposto a partir da identificação, capacidade de se estabelecer/permanecer, competir e a função no microambiente. Por exemplo, com resíduos lignocelulósicos a ação pode ser maléfica ou benéfica, uma vez que a estrutura das biomassas lignocelulósicas presentes no biocomposto pode dificultar a ação de microrganismos e dar preferências a determinadas espécies microbianas.

A presença de um determinado táxon não significa que as funções relativas determinadas em cultura pura que também possa ocorrer no solo estudado, assim como sua detecção no solo não significa que a função relativa esteja expressa, por isso, sua identificação servirá para uma melhor compreensão das funções do solo usando medições de diversidade microbiana serão apresentadas.

Atualmente a empresa comercializa este produto, porém, não se é divulgado. Pois, atualmente a produção do composto está passando por um processo de caracterização, que é alvo deste trabalho. Identificar os microrganismos presentes, se existe um risco de biossegurança e identificar também, como os micro e macronutrientes estão, para que possamos regularizar o composto melhorando o conteúdo. Realizando este processo, será possível ser cobrado um valor justo de sua produção.

# 10.1 Análise da composição de (bio)compostagem a partir de resíduos agroindustriais

Nas Tabelas 3, 4, 5 e 6 temos os dados da análise temporal de micro e macronutrientes recebida nos resíduos agroindustriais que mostra sazonalidade e que precisam ser padronizados para formulação dos produtos finais e atendimento de demandas especificas das culturas e/ou tipos de solos de MS. Esta amostra trata-se do lote 07 peneirado e entregue na data 13 de julho de 2022, as análises foram realizadas em dois laboratórios terceirizados: BioTec — Laboratório Agroindustrial LTDA. Localizado na Rua Monetti del Pichia, 1096 em São Gabriel do Oeste/MS. (E-mail: contato@laboratóriobiotec.com.br e site www.laboratóriobiotec.com.br). Laboratório AP AGROSCIENCES LTDA, localizado na Av. Marechal Floriano Peixoto, 1404 — sala 01 em Maracaju/MS. (E-mail: adm@apst.com.br).

Infelizmente, por não se ter a devida caracterização dos materiais recebidos, não tem registros de quais materiais foram recebidos nas datas das amostras.

**Tabela 3.** Determinação das amostras pelo laboratório BioTec: 2019 e 2020.

25/06/19		25/06/2019	22/06/2020	27/07/2020
Análise	Valores	Valores	Valores	Valores
рН	7.4	7.4	6.6	-
N total g/kg	0.32	0.46	16.95	-
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total g/kg	15.88	10.89	19.67	-
K <sub>2</sub> O total g/kg	1.74	1.85	3.62	-
Cálcio (Ca) g/kg	9.03	4.5	45.44	-
Magnésio (Mg) g/kg	2.35	1.66	2.66	-
Enxofre	2.6	2.61	-	-
Enxofre-Sulfato (SO <sub>4</sub> ) g/kg	-	-	2.27	-
Boro (B) Total mg/kg	<l.q< td=""><td><l.q< td=""><td><l.q< td=""><td>-</td></l.q<></td></l.q<></td></l.q<>	<l.q< td=""><td><l.q< td=""><td>-</td></l.q<></td></l.q<>	<l.q< td=""><td>-</td></l.q<>	-
Cobre (Cu) mg/kg	57.5	82.4	0.23	-
Ferro (Fe) g/kg	64.28	101.6	79.26	-
C.O Total (%)	13.56	11.32	19.72	-
Matéria Orgânica %	-	-	-	-
Relação C/N	-	-	-	-
Manganês (Mn) mg/kg	546.2	768.6	-	-
Zinco (Zn) mg/kg	93.2	130.8	-	-
Cobalto (Co) mg/kg	-	-	-	9.6
Molibdênio (Mo) mg/kg	-	-	-	2.0
Níquel (Ni) mg/kg	-	-	-	10.7
Umidade %	14.94	8.95	16.36	-
Arsênio (As) mg/kg	-		-	34.4
Cádmo (Cd) mg/kg	-	-	-	0.4
Cromo (Cr) mg/kg	-	-	-	20.4
CTC mmol/kg	-	-		

Chumbo (Pb) mg/kg	-	-	-	<l.q.< th=""></l.q.<>
Mercúrio (Hg) mg/kg	-	-	-	<l.q.< th=""></l.q.<>
Selênio	-	-	-	<l.q.< td=""></l.q.<>
Sódio (Na)	-	-	-	-
Condutividade elétrica	-	-	-	-
(uS/cm)				

Tabela 4. Determinação das amostras pelo laboratório BioTec: 2020 e 2021.

		04/12/20	22/01/2021	
Análise	Valores	Valores	Valores	-
pH	8.2	=	7.5	-
N total g/kg	14.65	-	11.81	
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total g/kg	19.67	-	7.28	
K <sub>2</sub> O total g/kg	12.21	-	3.42	
Cálcio (Ca) g/kg	3.12	-	5.38	
Magnésio (Mg) g/kg	2.91	-	0.36	
Enxofre	-	-	-	
Enxofre-Sulfato (SO <sub>4</sub> ) g/kg	6.36	-	2.02	
Boro (B) Total mg/kg	133.0	-	<l.q< td=""><td></td></l.q<>	
Cobre (Cu) mg/kg	207.3	284.2	10.9	
Ferro (Fe) g/kg	62.12	-	4344.8	
<b>C.O Total (%)</b>	15.96	-	23.2	
Matéria Orgânica %	-	-	39.9	
Relação C/N	-	-	-	١.
Manganês (Mn) mg/kg	785.1	-	79.6	/
Zinco (Zn) mg/kg	265.0	237.6	33.5	
Cobalto (Co) mg/kg	-	-	1.7	
Molibdênio (Mo) mg/kg	-	-	-	
Níquel (Ni) mg/kg	-	0.02	1.6	
Umidade %	13,16	-	15.07	
Arsênio (As) mg/kg	<l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td></td></l.q.<></td></l.q.<></td></l.q.<>	<l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td></td></l.q.<></td></l.q.<>	<l.q.< td=""><td></td></l.q.<>	
Cádmo (Cd) mg/kg	<l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td></td></l.q.<></td></l.q.<></td></l.q.<>	<l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td></td></l.q.<></td></l.q.<>	<l.q.< td=""><td></td></l.q.<>	
Cromo (Cr) mg/kg	1535.0	1521.4	46.7	
CTC mmol/kg	1800.0	-	1625.0	
Chumbo (Pb) mg/kg	<l.q.< td=""><td>0.01</td><td>0.3</td><td></td></l.q.<>	0.01	0.3	
Mercúrio (Hg) mg/kg	<l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td>-</td><td></td></l.q.<></td></l.q.<>	<l.q.< td=""><td>-</td><td></td></l.q.<>	-	
Selênio	<l.q.< td=""><td><l.q.< td=""><td>-</td><td></td></l.q.<></td></l.q.<>	<l.q.< td=""><td>-</td><td></td></l.q.<>	-	
Sódio (Na)	-	-	-	
Condutividade elétrica	-	-	-	
( 61 )				

**Tabela 5.** Determinação das amostras pelo laboratório AP AGROSCIENCES:

	04/02/2022				
Análise	Valores	Valores	Valores		
pН	7.9	7.9	7.9		
N total g/kg	11.6	16.14	13.43		
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total g/kg	6.05	7.31	7.85		
K <sub>2</sub> O total g/kg	14.74	16.01	25.3		
Cálcio (Ca) g/kg	20.74	20.75	20.7		
Magnésio (Mg) g/kg	5.07	5.3	3.53		

16/07/2021

Enxofre	15.9	13.5	9.7
Enxofre-Sulfato (SO <sub>4</sub> ) g/kg	4.04	4.64	2.12
Boro (B) Total mg/kg	<l.q< th=""><th><l.q< th=""><th><l.q< th=""></l.q<></th></l.q<></th></l.q<>	<l.q< th=""><th><l.q< th=""></l.q<></th></l.q<>	<l.q< th=""></l.q<>
Cobre (Cu) mg/kg	103.2	79.8	95.7
Ferro (Fe) g/kg	27.36	27.24	27.46
C.O Total (%)	15.15	21.82	18.19
Matéria Orgânica %	26.06	37.53	31.29
Relação C/N	-	-	-
Manganês (Mn) mg/kg	939.7	850.4	869.2
Zinco (Zn) mg/kg	288.2	399.3	361.9
Cobalto (Co) mg/kg	21.5	-	1.7
Molibdênio (Mo) mg/kg	0.7	-	-
Níquel (Ni) mg/kg	26.8	0.02	1.6
Umidade %	25.16	27.73	20.06
Arsênio (As) mg/kg	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""></l.q.<>
Cádmo (Cd) mg/kg	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""></l.q.<>
Cromo (Cr) mg/kg	279.1	281	323.1
CTC mmol/kg	1925	2625	2275
Chumbo (Pb) mg/kg	15.3	11.6	30.6
Mercúrio (Hg) mg/kg	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""></l.q.<>
Selênio	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""></l.q.<>
Sódio (Na)	-	-	-
Condutividade elétrica	-	-	-
(uS/cm)			

2022.

**Tabela 6.** Determinação das amostras pelo laboratório BioTec e AP AGROSCIENCES: 07/2022 e 08/2022.

22/07/2022	1	27/07/2022	23/08/2022	24/08/2022
Análise	Valores	Valores	Valores	Valores
Ph	7.2	8	7.1	6.9
N total g/kg	7	21.2	10.65	8.9
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total g/kg	15	24.78	12.39	11.8
K <sub>2</sub> O total g/kg	7	5.59	2.51	3.6
Cálcio (Ca) g/kg	39	23.01	20.53	20.8
Magnésio (Mg) g/kg	7	3.99	3.59	5.3
Enxofre	10	-	-	6.1
Enxofre-Sulfato (SO <sub>4</sub> ) g/kg	-	2.23	1.15	-
Boro (B) Total mg/kg	0.001	21.3	<l.q< th=""><th>0.4</th></l.q<>	0.4
Cobre (Cu) mg/kg	200	92	147.5	22.3
Ferro (Fe) g/kg	6.09	42.76	42500	5537.6
C.O Total (%)	26	16.31	7.69	37.6
Matéria Orgânica %	4.5	28.05	13.23	64.7
Relação C/N	-	7.69	0.72	-
Manganês (Mn) mg/kg	900	670.6	578.7	71.3
Zinco (Zn) mg/kg	500	352.8	163.2	23.9
Cobalto (Co) mg/kg		17.7	8.2	
Molibdênio (Mo) mg/kg	-	1.9	1.7	-
Níquel (Ni) mg/kg	<u>-</u>	19.4	4.3	-
Umidade %	25.16	27.73	20.06	
Arsênio (As) mg/kg	-	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""><th>-</th></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""><th>-</th></l.q.<>	-

-	<l.q.< th=""><th><l.q.< th=""><th>-</th></l.q.<></th></l.q.<>	<l.q.< th=""><th>-</th></l.q.<>	-
-	193	92.1	-
-	1950	900	-
_	1.2	<l.q.< th=""><th>-</th></l.q.<>	-
-	-	<l.q.< th=""><th>-</th></l.q.<>	-
-	-	-	-
-	1.11	553.4	-
-	300.4	159.9	-
	- - - - - -	- 193 - 1950 - 1.2 1.11	- 193 92.1 - 1950 900 - 1.2 <l.q 1.11="" 553.4<="" <l.q="" th=""></l.q>

**Obs:** < **L.Q** = Menor que o Limite de Quantificação; Resultados expressados conforme amostragem entregue no laboratório. Laudo sem fins Jurídicos. Após 30 dias todas as amostras foram descartadas.

Um fator a se acrescentar sobre os valores encontrados nas tabelas acima é que não temos um controle de quais foram os tipos de resíduos recebidos durante a coleta para as análises. Além disso, a natureza dos resíduos agroindustriais em si pode contribuir para a presença desses metais pesados no solo de compostagem, visto que muitos desses resíduos possuem alta concentração de elementos traço. Com a identificação dos valores altos de ferro, enxofre e manganês nas leiras acontece a acidificação excessiva do composto produzido, o que pode prejudicar o crescimento de plantas e culturas. Isso ocorre porque esses elementos contribuem para a formação de ácidos no solo, que podem se acumular em concentrações elevadas.

**Tabela 7.** Média e desvio padrão encontrado das análises.

Elemento	Média	Desvio
		Padrão
pН	7,5	0,47
N total g/kg	11,09	5,99
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total g/kg	13,21	5,66
K <sub>2</sub> O total g/kg	8,13	7,07
Cálcio (Ca) g/kg	19,41	12,49
Magnésio (Mg) g/kg	3,64	1,75
Enxofre	8,63	4,75
Enxofre-Sulfato (SO <sub>4</sub> ) g/kg	3,10	1,63
Boro (B) Total mg/kg	38,67	55,13
Cobre (Cu) mg/kg	106,38	80,24
Ferro (Fe) g/kg	4401,71	11630,85
C.O Total (%)	18,87	7,46
Matéria Orgânica %	30,65	16,98
Relação C/N	4,20	3,48
Manganês (Mn) mg/kg	641,76	292,75
Zinco (Zn) mg/kg	237,45	144,95
Cobalto (Co) mg/kg	10,16	8,15
Molibdênio (Mo) mg/kg	1,43	0,52
Níquel (Ni) mg/kg	7,67	10,04
Umidade %	19,48	6,04
Arsênio (As) mg/kg	-	
Cádmo (Cd) mg/kg	-	
Cromo (Cr) mg/kg	533,92	580,88

CTC mmol/kg	1871,42	499,89
Chumbo (Pb) mg/kg	9,83	11,00
Mercúrio (Hg) mg/kg	-	
Selênio	-	
Sódio (Na)	277,25	276,14
Condutividade elétrica	230,15	70,25
(uS/cm)		

Optou-se por fazer média (m) e o desvio padrão (dp) a partir das análises de nutrientes do solo, devido a diversidade e sazonalidade no recebimento e quantidades. Buscou-se ter uma compreensão da constituição da (bio)compostagem de forma inicial devido à complexidade e o potencial usos dos produtos como fertilizantes, insumos ou misturas para a fertilização de solos, bem como para avaliar as variações dos resultados obtidos durante as análises temporais a partir das análises de micro e macronutrientes.

Sabe-se que a média (m) é usada para representar o valor central dos dados, enquanto o desvio padrão (dp) indica a dispersão dos valores em relação à média. O intervalo usado para esse cálculo pode variar muito a depender do tipo de resíduo utilizado e origem, pode determinar a aplicação do produto.

Em geral, utiliza-se como padrão um intervalo de confiança de 95%, que significa que há uma probabilidade de 95% de que o valor real do nutriente esteja dentro do intervalo calculado que foi realizado com o software Excel 2016 do pacote Office.

[33] Destaca-se o grupo dos metais entre os principais contaminantes inorgânicos presentes nos lixiviados de aterros de resíduos industriais e, dentre eles, citam o cádmio, o cobre, o arsênio, o chumbo e o cromo. Além destes, Pessin et al. (2003) incluem na composição físico-química de lixiviados de aterros industriais o alumínio, o níquel, o zinco, o manganês e o ferro.

Estes elementos presentes em análises de solo podem ser prejudiciais à microbiota quando seus níveis são alterados significativamente. Existe a presença de metais pesados nas amostras, em altas concentrações, como chumbo, cádmio e cobre, podem ser tóxicas para a microbiota do solo.

Apesar de encontrado chumbo nas amostras, de acordo com a Resolução CONAMA para solos residenciais é permitido uma concentração de 300 mg/kg de chumbo.

Com a presença de Zinco, a toxidez em plantas acarreta na diminuição tanto da produção de matéria seca da parte aérea, quanto da biomassa radicular; necrose da

radícula ao entrar em contato com o solo; morte da plântula e inibição do crescimento vegetal [8] [35]. Então, considera-se uma toxidade de zinco nas amostras analisadas das tabelas, pois, estudos da Embrapa sobre zinco e ferro, informa que níveis adequados em plantas variaram de 18 a 67 mg Zn kg<sup>-1</sup> e os tóxicos variaram de 100 a 673 mg Zn kg<sup>-1</sup>, dependendo da cultura. [43]

Com a presença de fósforo, que é um dos mais importantes constituintes minerais da atividade celular, têm potencial poluidor especialmente em águas superficiais quando se tem excesso, ocorrendo a eutrofização que é o enriquecimento excessivo da água, sendo estimulador do crescimento de algas e plantas, prejudicando a utilização da água. Porém, a legislação brasileira não considera o fosforo como um poluente, mas já existem diversos estudos que demonstram este potencial.

# 10.2 Análise de amostras de biocompostagem obtidos nas leiras em 2022 e 2023.

A amostragem foi inteiramente casualizados de amostras das leiras que resultaram em 2 (duas) amostras para a caracterização físico-química e biológica. As análises foram realizadas em triplicatas (3) em cada determinação das 2 (duas) amostras coletadas das leiras com 1 (mês) e dos depósitos de biocompostagem processada com 6 (meses). As análises químicas serviram para complementação da determinação de parâmetros físico-químicos e biológicos da (bio)compostagem das leiras e depósitos em diferentes períodos temporais.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fertilidade e Laboratório de Física dos solos da UFGD (Universidade Federal da Grande Dourados). As Tabelas 8 a 15 e Figuras de 9 a 13 representam os dados e cálculos obtidos através destas análises:

Tabela	8.	Dados	da	extração	de	cátion.

Identificação	Peso com amostra e adição de Ácido Sulfurico	Peso do recipiente sem amostra	Após filtragem	Após calcinação	Peso real sem queimar
1	1 g + 5mL Ácido Sulfúrico	39,069g	39,476g	0,291g	0,407g
2	1 g + 5mL Ácido Sulfúrico	35,203g	35,717g	0,291g	0,514g
3	1 g + 5mL Ácido Sulfúrico	34,824g	35,326g	0,291g	0,502g

Nesse procedimento, podemos determinar quantitativamente o teor de ferro, cálcio, magnésio, potássio e alumínio contido na amostra, utilizando o líquido

recorrente da filtragem com a técnica de espectrometria de emissão (plasma de acoplamento indutivo (ICP).

Tabela 9. Determinação de sólidos totais fixos.

Identificaçã o	Peso do recipiente	Peso da amostra	Após calcinação	%
1	34,841g	2,086g	36,092g	59,97%
2	38,425g	2,080g	39,677g	60,19%
3	39,948g	2,005g	41,143g	59,60%

Figura 9. Resolução da equação de sólidos totais fixos.

$$STF = \frac{(D-B) \times 100}{C-B}$$

$$SFT(1) = \frac{36,092 - 34,841}{2,086} \quad x100$$
Onde:
$$STF = \text{s\'olidos totais fixos} - (\%)$$

$$STF = \text{s\'olidos totais fixos} - (\%)$$

$$STF(2) = \frac{39,092 - 38,425}{2,080} \quad x100$$

$$STF(2) = 60,19\%$$

$$C = \text{peso da amostra inicial} + \text{recipiente}, (g)$$

$$STF(3) = \frac{41,143 - 39,948}{2,005} \quad x100$$

$$D = \text{peso da amostra calcinada} + \text{recipiente}, (g)$$

$$STF(3) = 59,60\%$$

Fonte: autor

Tabela 10. Determinação de sólidos voláteis.

Identificação	Peso do recipiente	Peso da amostra	Peso da amostra c/ recipiente	Peso amostra seca	calcinação	%
L1	36,848g	2,004g	38,852g	38,098g	0,754g	24,75%
L2	35,070g	2,000g	37,070g	36,289g	0,781g	21,90%
L3	37,094g	2,003g	39,097	38,305g	0,792g	20,91%

Figura 10. Resolução da equação de sólidos voláteis.

$$SV = \frac{(A-D) \times 100}{C-B}$$
  $SV(1) = \frac{38,098 - 37,602}{2,004} \times 100$  Onde:  $SV(1) = 24,75\%$   $SV = \text{s\'olidos vol\'ateis}, (\%)$   $SV = \text{s\'olidos vol\'ateis}, (\%)$   $SV(2) = \frac{36,289 - 35,851}{2,000} \times 100$   $SV(2) = 21,90\%$   $SV(2) = 21,90\%$   $SV(3) = 38,305 - 37,886 \times 100$   $SV(3) = 9$  peso da amostra calcinada + recipiente, (g)  $SV(3) = 20,91\%$ 

Fonte: autor

**Tabela 11**. Determinação de sólidos totais.

Identificaçã o	Peso sem amostra	Peso da amostra	Resultado após 24h a 105°C	С-В	Resultado do Cálculo %
L1	20,699g	10,014g	30,077g	9,378g	93,684%
L2	21,136g	10,000g	30,470g	9,334g	93,34%
L3	19,525g	10,007g	28,846g	9,321g	93,144%

A Tabela 11 ilustra os teores verificados nas amostras submetidas as leiras. Para a determinação dos sólidos totais, sólidos voláteis e sólidos totais fixos, a base foi na metodologia do MAPA (Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos) com embasamento no capítulo III, usados em orgânicos e organominerais.

Os testes de teores foram realizados a fim de avaliar as características das amostras avaliadas e as condições destas para a geração de um bio(fertilizante) e caracterização do material fornecido pela OCA.

Figura 11. Resolução da equação dos sólidos totais.

$$ST = \frac{(A-B) \times 100}{C-B}$$

Onde:  $ST(L1) = \frac{9.378}{10,014} \times 100\%$   $ST(L2) = \frac{9,334}{10} \times 100\%$ 
 $ST = \text{solidos totais, (\%)}$   $ST(L1) = 93,648\%$   $ST(L2) = 93,34\%$ 
 $ST(L1) = 93,648\%$   $ST(L2) = 93,34\%$ 
 $ST(L3) = 93,21 \times 100\%$ 
 $ST(L3) = 93,21 \times 100\%$ 
 $ST(L3) = 93,144\%$ 

Fonte: autor

Durante o processo de compostagem, necessita-se realizar análises para determinar a eficiência do processo e a qualidade do composto produzido, incluindo a medição dos teores de sólidos totais, voláteis e totais fixos. Sendo assim, podemos determinar que:

**Sólidos totais:** um dos principais indicadores da qualidade do composto é o teor de sólidos totais, que representa a quantidade de matéria orgânica presente no composto. Esse valor é importante porque quanto maior for o teor de sólidos totais, maior será o conteúdo de nutrientes disponíveis para as plantas. Isso significa que o composto terá

um potencial de fertilização mais alto e pode ser mais adequado para determinados cultivos.

Substâncias voláteis: outro indicador importante é o teor de sólidos voláteis, que representa a quantidade de material orgânico no composto que se transformou em gases durante o processo de compostagem. O valor de sólidos voláteis é importante porque quantifica a quantidade de matéria orgânica que foi decomposta e não está mais presente no composto final. Um valor mais baixo de sólidos voláteis indica um processo de compostagem mais completo e eficiente, que transformou mais matéria orgânica em nutrientes

Sólidos totais fixos: representa a porcentagem (%) de matéria orgânica no composto que não é volátil e permanece no composto final. Esse valor é importante porque é uma medida da "estabilidade" do composto - quanto mais fixos forem os sólidos, menor será a possibilidade de compostos orgânicos indesejados, como patógenos, estarem presentes no composto final.

Quando os sólidos totais representam mais de 93% da composição total de um solo de compostagem, isso indica que a maior parte do material presente é composta por substâncias sólidas. Nesse contexto, os sólidos totais geralmente consistem em matéria orgânica decomposta, restos de plantas, microrganismos e possivelmente resíduos inorgânicos presentes na compostagem [43].

Se os sólidos totais fixos representam 60% da composição total, sugere que uma porção significativa dos sólidos é composta por minerais inorgânicos provenientes de adições de solo, cinzas de madeira ou outros materiais inorgânicos adicionados à compostagem. Isso pode melhorar a estrutura do solo de compostagem e fornecer nutrientes adicionais quando aplicado posteriormente no cultivo de plantas [43].

Quando os sólidos voláteis representam 20% da composição total, sugere que há uma proporção substancial de matéria orgânica que pode ser facilmente volatilizada, como gases e compostos orgânicos leves. Isso é comum em um processo de compostagem ativo, onde ocorre a decomposição dos resíduos orgânicos [43].

Esses dados indicam que o solo de compostagem possui uma alta concentração de matéria orgânica decomposta, uma quantidade considerável de minerais inorgânicos e uma proporção menor de substâncias voláteis. Essas características são desejáveis em um solo de compostagem, pois indicam um processo de decomposição eficiente e um

potencial alto para o fornecimento de nutrientes às plantas quando utilizado como biofertilizante. Na Tabela 12 mostra-se a análise do teor de umidade.

**Tabela 12.** Análise de umidade.

Identificação	Porcentagem	Teor de
		Umidade
L1	93,648%	6,352%
L2	93,34%	6,66%
L3	93,144%	6,856%

A umidade na compostagem é importante, pois o solo é a base de todo o processo de decomposição e transformação dos resíduos orgânicos em adubo e este parâmetro necessário para os processos degradativos. Assim, o objetivo desta análise é determinar a quantidade de água das substâncias no processo de degradação. Os resultados mostraram para esta análise, em base seca, um teor de 6,8%. Quando analisamos o produto da compostagem encontramos um teor umidade de 6,8%. Pode-se considerar: em primeiro lugar, é preciso entender que esse valor pode variar ao longo do processo de compostagem devido as condições de degradação e climáticas (temperatura, umidade do ar, quantidade e qualidade dos resíduos adicionados). Estas últimas, normalmente, não se tem o devido controle de recebimento para as misturas e processos de degradação, produção e manutenção das leiras sobre o solo do aterro.

Sendo assim, quando o solo está muito seco, os microrganismos responsáveis pela decomposição dos resíduos podem não realizar as atividades biológicas corretamente, que pode retardar ou impedir a transformação dos resíduos em adubo. Por outro lado, se o solo estiver muito úmido, pode ocorrer o risco de o composto apodrecer ou desenvolver fungos e bactérias indesejáveis. Por isso, é fundamental manter um equilíbrio adequado de umidade ao longo de todo o processo de compostagem. Na Figura 12 mostra-se a equação do teor de umidade.

Figura 12. Resolução da equação do teor de umidade.

Ta = 100 - STOnde: Ta = teor de umidade em água - (%) ST = Sólidos totais - (%) Ta(L1) = 100 - 93,648 % Ta(L2) = 100 - 93,34 % Ta(L1) = 6,352% Ta(L2) = 6,66% Ta(L3) = 100 - 93,144 % Ta(L3) = 6,856%

#### Fonte: autor

Na Tabela 13 mostra-se os resultados da análise granulométrica dos produtos da compostagem.

Tabela 13. Resultados obtidos no procedimento de análise granulométrica.

Peneiras	Peso da amostra	Peso das peneiras sem amostra	Peso com amostra após agitação	Peso da amostra sem recipiente após agitação	%	
4,0 mm	100g	19.373g	24.009g	4,63g	4,63	
2,0 mm	100g	20.204g	41.572g	21,36g	25,99	
1,0 mm	100g	19.499g	39.671g	20,17g	46,17	
840 μm	100g	19.182g	25.268g	6,08g	52,26	
500 μm	100g	18.764g	31.062g	12,29g	64,56	
250 μm	100g	20.653g	32.105g	11,45g	76,01	
FUNDO	-	19.749g	43.126g	23,37g	99,38	

A partir da análise granulométrica pode-se entender a distribuição de tamanhos de partículas do composto gerado pelas leiras e, funcionalidade em termos de superfície e atividade fertilizante. Com os resultados obtidos, é possível concluir a porcentagem de cada fração granulométrica, a curva granulométrica e a classificação do material de acordo com as normas técnicas. De acordo com a tabela acima, a maior retenção de grânulos ocorreu na peneira 250 µm indicando que naquele solo obtém presença de partículas maiores do que o esperado na amostra em análise.

O objetivo do peneiramento é a separação de um material em frações. Sendo assim, conseguimos ter uma base das proporções que foram retidas pelas peneiras. Outro parâmetro importante no qual foi analisado é a massa de Goudin. Essa massa está expressa na tabela, onde obtemos as partículas tiveram a oportunidade de passar por toda a malha. Na Tabela 14 mostra-se a determinação da sílica.

Tabela 14. Determinação quantitativa de sílica.

Identificação	Massa inicial	Massa final		
ÚNICO	2,000g	0,875g		

De inicial, foram separadas 3 amostras de 2,0g cada. Porém, após a filtragem e calcinação do material, perdeu-se sua pesagem original. Assim, foi optado por juntar as três amostras e calcular sua massa final para aproximar de 1,0g pedida na metodologia. Porém, se separarmos as 3x três amostras, seus pesos ficariam entre: L1= 0,2917g; L2= 0,2917g e L3=0,2917g.

A análise quantitativa de sílica em resíduos agroindustriais pode ajudar a determinar a qualidade do composto produzido pelos resíduos. Uma quantidade suficiente de sílica no composto pode ajudar a melhorar a saúde das plantas, aumentando a resistência a pragas e doenças. Além disso, a presença de sílica em compostos pode melhorar a aeração do solo, aumentando a capacidade de retenção de água e nutrientes. Por fim, a determinação quantitativa de sílica também pode ajudar na seleção dos resíduos a serem utilizados na compostagem, ajudando a evitar resíduos com níveis muito baixos de sílica, que podem não ter benefícios significativos para a produção de composto. Na Figura 13 mostra-se a equação para determinação de sílica.

Figura 13. Resolução da equação de sílica.

$$Ts = \frac{Mf}{Mi} \times 100$$

Onde:

 $Ts = \text{teor de sílica (\%)}$ 
 $Mi = \text{massa inicial - (g)}$ 
 $Mf = \text{massa final - (g)}$ 
 $Ts = \frac{0,875}{2} \times 100$ 
 $Ts = 43,75\%$ 

Fonte: autor.

#### 11.3 Teor de materiais orgânicos (MOs)

Utilizando a metodologia de perda de massa por ignição (PMI), onde esta metodologia determina o conteúdo de materiais orgânicos no solo, (MOS), método do Laboratório de Referência Vegetal [4]. Na Tabela 15 mostra-se a determinação do material orgânico das leiras.

**Tabela 15.** Determinação de material orgânico das leiras.

AMOSTRA	Tara	Solo	Solo	Solo seco	Solo	Solo	% C
	cadinho	Úmido	seco+cadinho		Mufla+Cadinho	após	total
						mufla	
1	32,487	3,094	34,749	2,262	32,937	0,450	80,11
2	37,280	3,214	39,395	2,115	37,803	0,523	75,27
3	37,140	3,225	39,292	2,152	37,842	0,702	67,38

Quando se fala em compostagem, o material orgânico é o protagonista. Afinal, é ele que faz a decomposição acontecer. Por isso, é importante realizar análises do solo para constatar se o teor de material orgânico está no nível adequado. Se a taxa estiver entre 80 e 65%, significa que a compostagem está em um bom momento.

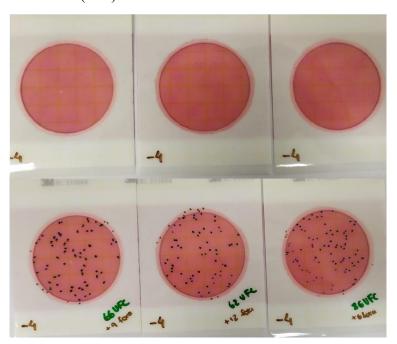
Nessa fase, é possível visualizar uma grande quantidade de matéria orgânica ainda não decomposta. Porém, o material já passou pela primeira etapa da transformação e se encontra em um estágio intermediário. É uma fase em que a temperatura do solo é elevada e ocorre a atuação de microrganismos específicos, responsáveis pela quebra dos compostos orgânicos complexos.

Quando o material atinge essa taxa de decomposição, há uma liberação de compostos simples, como o dióxido de carbono e água. Além disso, o solo passa a ter um odor peculiar e a textura começa a ficar mais uniforme, sem a presença de resíduos maiores. É importante frisar que a compostagem não deve ultrapassar 70% de material orgânico.

# 10.4 Análises microbiológicas: identificação de microrganismos da amostra 1 (um) mês.

Na Figura 14 mostra-se a contagem UFC de amostra referente ao material de coleta de 1 (um) mês.

**Figura 14:** contagem de UFC em Petrifilm para identificação de *E. coli* referente a amostra de 1x (mês).



Fonte: autor.

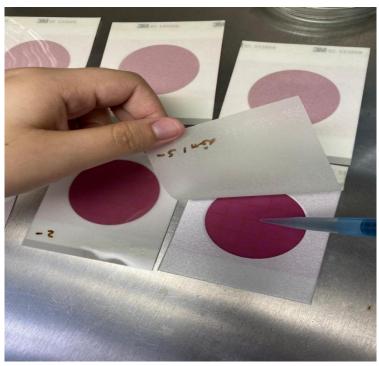
## **Contagem Estimada de Coliformes Totais = 220**

A área circular de crescimento é aproximadamente 20 cm². Em Petrifilm EC, a área circular de crescimento é de aproximadamente 20 cm², podem ser feitas estimativas nas placas contendo mais de 150 colônias, através da contagem do número de colônias em um ou mais quadrados representativos e determinando o número médio por quadrado. Multiplica-se o número médio por 20 para determinar a contagem estimada por placa.

A diluição 10<sup>-4</sup> tem uma média de 71,3 UFCs, sendo representada por: 71,3x10<sup>4</sup> = 7,1x10<sup>5</sup> UFC/g de amostra, teoricamente o resultado mais confiável, pois tem-se preferência a placas com 30-300 UFCs.

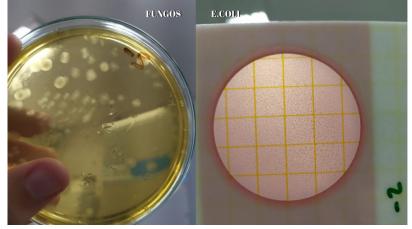
Na imagem mostrada, foi o teste de *E. coli*. De acordo com o manual ela cresce em si uma colônia azul com bolhas de gás em volta. Nenhuma das placas criaram gás e todas as que cresceram eram vermelhas, caracterizando por enterobactérias. Na Figura 15 (amostra de 1 (um) mês) e Figura 16 (amostra de 6 (seis) meses) com a técnica em Petrifilm para *E. coli*.

Figura 15: Técnica em Petrifilm para E. coli.



Fonte: autor.

**Figura 16:** Técnica em Petrifilm para *E. coli* no teste de número 2, amostra de 6 meses e PCA para teste de fungos na amostra de 1 mês.



Fonte: autor.

Para melhor interpretar os resultados, a tabela abaixo permite ilustrar a contagem de microrganismos de 1 mês e 6 meses, final. Com isso registrou-se resultados de diferentes métodos de contagem, como Petrifilm, PCA, PCA com fluconazol e BDA. Na Tabela 16 mostram-se as contagens dos fundos e bactérias em Petrifilm, PCA, PCA com fluconazol e BDA.

**Tabela 16.** Contagem dos fundos e bactérias em meio Petrifilm, PCA, PCA com fluconazol e BDA.

Meio e Diluição	1 mês	1 mês	1 mês	6 meses	6 meses	6 meses	diluição	Resultad o final 1 mês	Resultad o final 6 meses
Petrifilm l	Petrifilm EC 24h								
-2	-	-	_	0	0	0			
-3	Incontáv	vel (450-50	00 UFC)	1	0	0			
-4	66	62	86	1	0	0	1,00E-0 4	7,13E+05	3,3E+03
PCA (escu	ro) 48h								
-5	Ćresc fungos	Cresc fungos	Cresc fungos	105	122	127	1,00E-0 5	Cresc fungos	1,18E+07
-6	Cresc	Cresc	Cresc	14	15	13	1,00E-0	Tuligos	1,40E+07
-7	fungos Cresc	fungos Cresc	fungos Cresc	1	2	0	6 1,00E-0	Cresc	1,00E+07
	fungos	fungos	fungos				6	fungos	
PCA c/ Flu	uconazol 4	8h							
-5**	336	423	391	150	114	121	1,00E-0 5	3.83E+07	1,28E+07
-6*	46	33	44	11	9	4	1,00E-0	4,10E+07	8,00E+06
-7	4	1	8	1	1	2	1,00E-0 7	4,33E+07	1,33E+07
BDA 5 dias									
-2*	-	-	-	155	327	386	1,00E-0 2	-	2,89E+04
-3*	-	-	-	70	47	43	1,00E-0 3	-	5,33E+04

-4\* 329 365 386 15 16 17 1,00E-0 3,60E+06 1,60E+05

Legendas: (\*) significa uma marcação feita para identificar que a quantidade de colonias está dentro do confiável pela literatura; para o negativo na frente dos números é relacionado aos números de diluições. Em resultado final, E+ significa que o número está elevado a uma concentração, exemplo 7,13E+05 é 7,13x10<sup>5</sup>.

Nas amostras de 1 mês em Petrifilm, tivemos apenas um parâmetro, uma quantidade incontável número nas quantidades de UFC, conseguindo apenas fazer uma estimativa, já nas diluições de -4 teve uma baixa. A amostra de 6 seis meses, apresentou uma diminuição do número de coliformes totais.

Houve grande quantidade de fungos para amostra de 1 mês, não foi utilizado antifúngico no teste. O crescimento de fungos nesse caso ocorreu pela grande população de fungos na amostra de 1 mês associada à falta de composto antifúngico no meio, o que pode acontecer com qualquer amostra. Inclusive, pela contagem feita no meio apropriado, observa-se que a população bacteriana é maior que a de fungos em ambas as amostras, mantendo-se em  $10^7$  enquanto a de fungos cai. Por fim, teve-se uma redução significativa dos fungos de 1 mês  $(10^6)$  pra 6 meses  $(10^4)$ .

Estes resultados sugerem que na (bio)compostagem a microbiota pode alterar a partir do tempo de decomposição entre população de bactérias e fungos, devido ao processo de decomposição do material orgânico ou até competição entre espécies.

# 10.4 Análises genômicas de bactérias e fungos da amostra de 6 (seis) (meses) da (bio)compostagem (IB/UNICAMP)

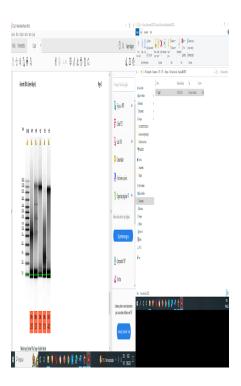
As amostras de biocompostagem utilizadas foram coletadas na OCA Ambiental Ltda a partir das leiras de degradação/compostagem e dos montes de produtos da (bio)compostagem que foi peneirada e/ou processada para uso e fertilização de solo. Com tempo de diferença entre amostras de 1(um) mês e 6 (seis) meses. A análise genômica foi realizada no Instituto de Biologia da UNICAMP (IB/UNICAMP), Campinas, SP.

Das 3 (três) amostras de solo apenas 2 (duas) retornaram quantidade e integridade de DNA necessária para poder seguir com o sequenciamento genético. As amostras C9 (Rod1) com 41,4 ng/μl exibindo DIN 5,1 e E9 (Rod3) 9,66 ng/μl exibindo DIN 4,1. A amostra D9 (Rod2) com 14,4ng/μl exibiu DIN 1,9 que apesar de apresentar uma concentração de DNA mais elevada que a amostra E9, não demonstro integridade no DNA como pode ser visto na Figura 17. Uma possível explicação para as baixas

concentrações de DNA pode ser o longo tempo de armazenamento antes do início das análises.

As amostras A9 e B9 pertencem a análise de outra pesquisa realizada.

Figura 17. Concentração em pares de base de DNA

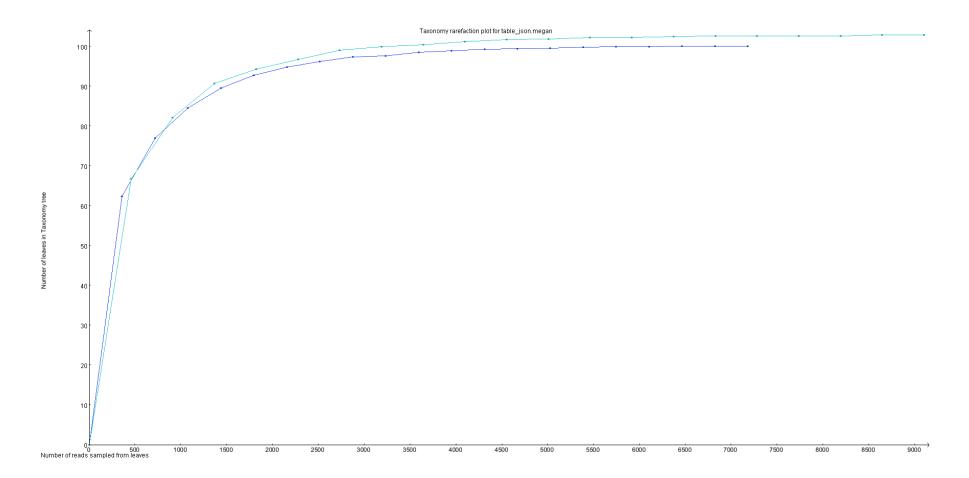


Fonte: autor.

Um total de 132.011 sequências de DNA restaram após todas análises de qualidade, sendo 24.298 sequencias de bactérias e 107.713 de fungos.

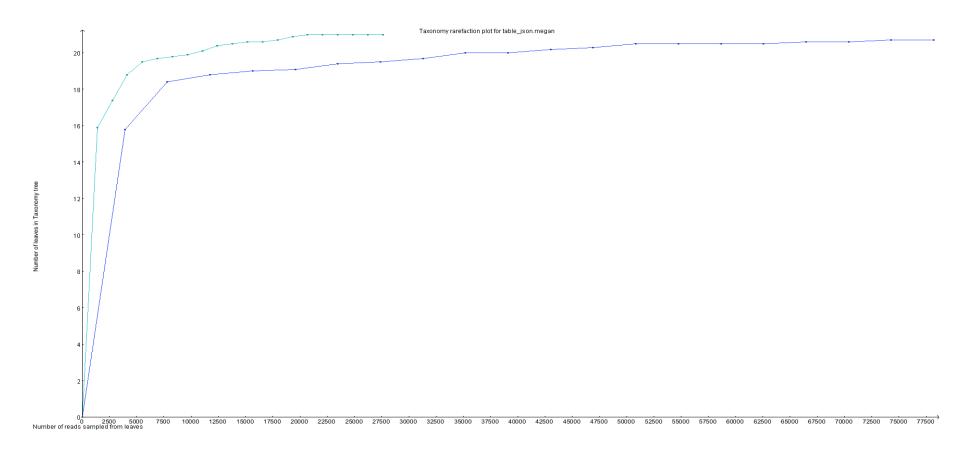
No Gráfico 1 pode-se observar que o DNA sequenciado foi suficiente para analisar a diversidade de espécies de bactérias existentes nas amostras.

Gráfico 1: Rarefação bactérias.



Fonte: autor

No Gráfico 2 é possível observar que o DNA sequenciado foi suficiente para analisar diversidade de fungos existentes nas amostras. **Gráfico 2:** Rarefação de fungos.



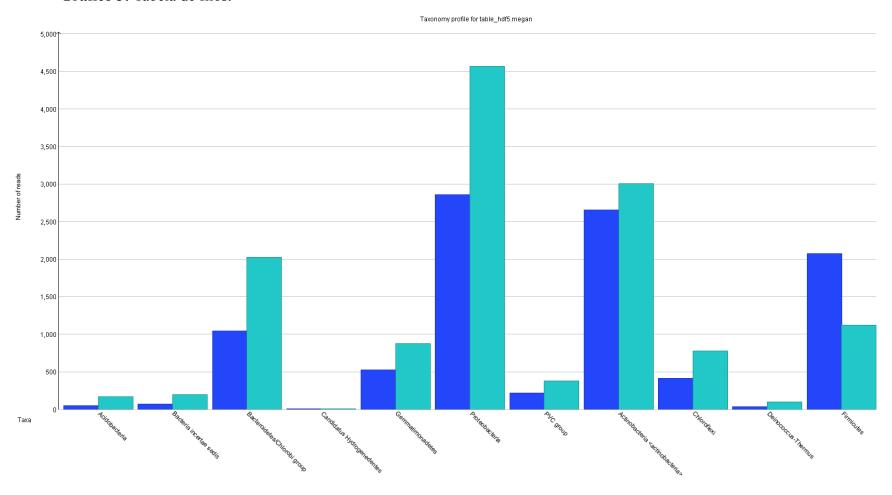
Fonte: autor.

Na classificação taxonômica de bactérias 11 (onze) filos foram detectados como pode ser observado no Gráfico 3, deles os maiores foram Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Bacteriodota.

O filo Proteobactéria é um dos maiores e mais diversos filos em número de espécies bacterianas, chegando a representar 30% das espécies descritas [19]. Esse filo pode ser dividido em 5 (cinco) classes sendo que na alphaproteobactérias encontram-se diversas espécies de interesse agrícola que participam do ciclo do carbono e do nitrogênio e interessantes para fins de fertilização dos solos.

[37] Verifica-se que o filo Proteobacteria pode ser usado como um indicador de maturação da compostagem, pois a abundância relativa das bactérias desse filo aumentava durante a compostagem de resíduos animais. Por outro lado, bactérias dos filos Firmicutes, Actinobacteria e Bacteroidota diminuíram sua abundância na compostagem final.

Gráfico 3: Tabela de filos.



Fonte: autor.

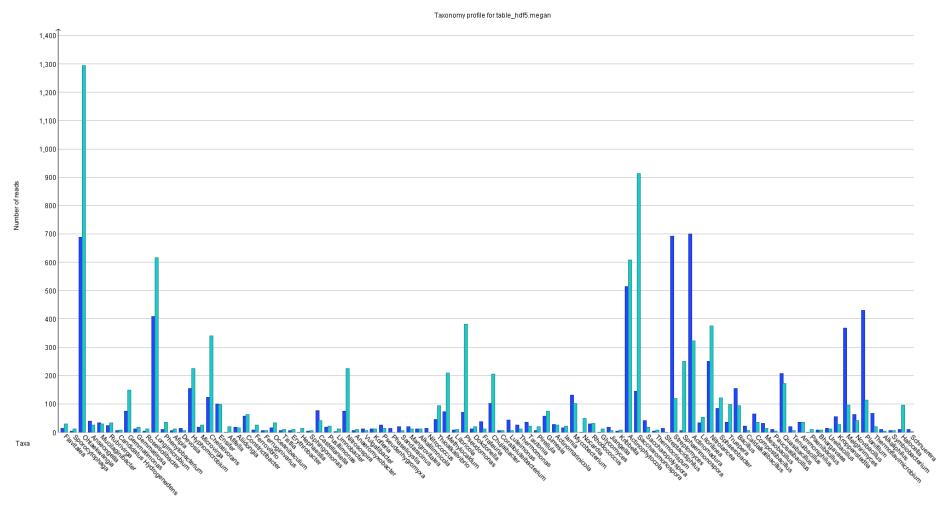
Os 3 (três) gêneros que mais se destacaram no Gráfico 4 foram: *Ohtaekwangia* que pertence ao filo *Bacteriodota*. *Sacchromonosprora* e *Actinomadura* que pertencem ao filo *Actinomycetota*. O filo Actinomycetota é encontrado com tanta frequência no solo e faz parte do grupo Terrabacteria. A literatura descreve que outros pesquisadores também observaram a ocorrência desse filo em solo de compostagem e, a presença pode sugerir/indicar a compatibilidade da (bio)compostagem com os solos [25] [60].

Pesquisas da rizosfera de diferentes plantas como cactos, *Calotropis procera*, *Discaria trinervis* e *Azadirachta indica* relataram a presença de bactérias do gênero *Actinumadura* que pode ocorrer em diferentes tipos de solos. Os resultados destas pesquisas indicam que as bactérias desse gênero, possivelmente, interagem com essas plantas [56] [38] [46]. Algumas espécies desse gênero secretam enzimas capazes de degradar celulose e material lignocelulósico [63] isso demonstra a importância da presença de bactérias desse gênero na compostagem. Por outro lado, a espécie *Actinomadura madurae* é patogênica a humanos, então cuidados são necessários para a biossegurança do uso desses materiais [7]. Porém, vale ressaltar que a exposição destes agentes só se torna perigoso se a concentração existente em unidade por volume apresentar um grau elevado de disseminação.

Actinomadura madurae é de classe de risco 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade): Inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, e para os quais existem medidas profiláticas e terapêuticas conhecidas eficazes. NB- 2 (Nível de Biossegurança 2) requer procedimentos para o trabalho com microorganismos (classe de risco 2) capazes de causar doenças em seres humanos ou em animais de laboratório sem apresentar risco grave aos trabalhadores, comunidade ou ambiente. Agentes não transmissíveis pelo ar. Há tratamento efetivo e medidas preventivas disponíveis. O risco de contaminação é pequeno. [67]

Bactérias do gênero Saccharomonospora podem resistir a altas temperaturas e converter material vegetal em matéria orgânica [61]. Bactérias desse gênero foram abundantes ao final de compostagem de citrus [64]. No gráfico 4 mostram-se os gêneros.

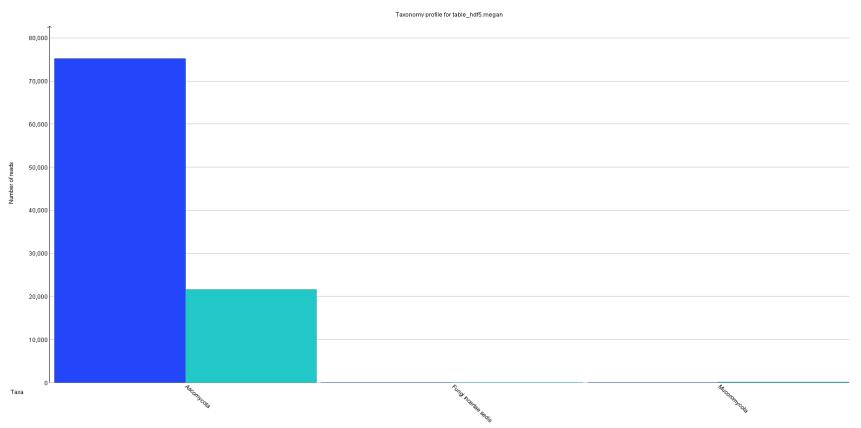
**Gráfico 4:** Tabela de gêneros.



Fonte: autor.

A classificação taxonômica de fungos detectou 2 (dois) filos: *Ascomycota* com um grande número de representantes e uma pequena participação do filo *Mucoromycota*, como pode ser visto no Gráfico 5.

**Gráfico 5:** Tabela de filos de fungos

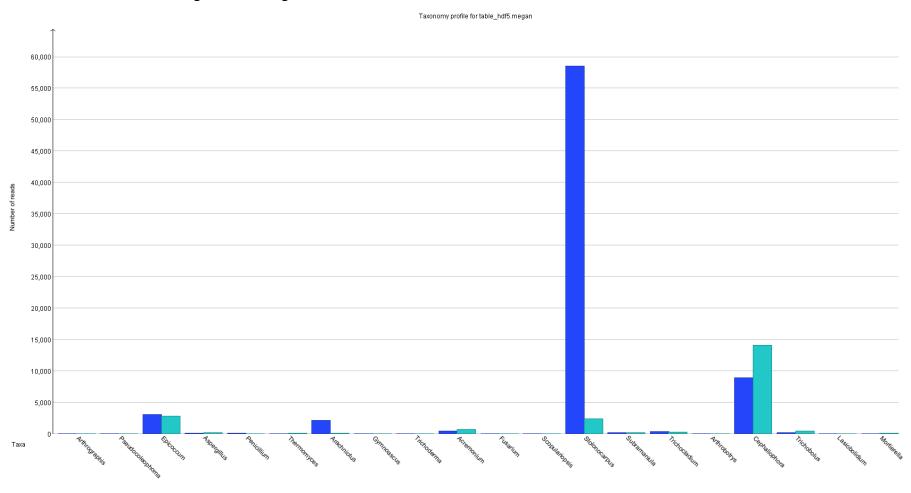


Fonte: autor.

A classificação Fungi Incertae sedis agrupa todos os filos de fungos e foi inserida pelo programa megan. Análises de uma compostagem agroindustrial revelaram que integrantes do filo *Ascomycota* dominaram todos os estágios de compostagem observados [57]. Diferentes pesquisas relataram uma baixa presença de fungos integrantes do filo *Mucoromycota* na compostagem de esterco de galinha e estrume de porco [18] [34].

Observando os resultados de gêneros de fungos no gráfico 6, três principais se destacaram em ordem de grandeza decrescente: *Stolonocarpus, Cephaliophora e Epicoccum*. Esses três gêneros são integrantes do filo *Ascomycota*.

**Gráfico 6:** Tabela de gênero de fungos.



Fonte: autor.

O gênero *Stolonocarpus* foi relatado em experimento de adubação em pepino ocorrendo em estreita correlação com outros gêneros fúngicos como *Penicilium, Trichocladium, Enterecarpus* e outros, ao reduzir a quantidade de adubos químicos e aumentar a quantidade de esterco na plantação [62].

A utilização de adubação composta de esterco de ovelha, resíduo de fungo, restos vegetais e palha de milho em plantio de abobrinha fez com que a população de fungos pertencentes a esse gênero aumentasse na rizosfera dessa planta nas 3 (três) repetições [54]. Em outro experimento verificou-se que a compostagem de palha de arroz e esterco bovino teve melhor eficiência ao adicionar inoculante contendo os fungos: *Malbranchea cinnamomea e Gloeophyllum trabeum. M. cinnamomea*, que elevaram a temperatura e a provocaram um aumento dos fungos termofilicos do gênero *Cephaliophora*, que atingiu o máximo durante o estágio termofilico, reduzindo ao final da compostagem [66].

A utilização de biocarvão de folha de pinheiro aumentou a abundância de fungos na compostagem de dejetos de suínos melhorando os parâmetros físico-químicos durante a compostagem e o um dos gêneros que tiveram aumento no processo foi o *Epicoccum* [34].

Ao analisar os dados do Qiime 2, foi possível verificar a presença da espécie *Epicoccum thailandicum*. Essa espécie de fungo foi identificada como um patógeno de folhas de *Amomum villosum*, uma planta amplamente cultivada como cultura comercial e medicinal. Este é o primeiro relato de que *Epicoccum thailandicum* é o fungo patogênico que infecta as folhas de *Amomum villosum* [53].

Quando vemos que tais atividades supracitada, obtem a presença destes microrganismos, ajuda a entendermos quais destas podem contribuem para pesquisas e trabalhos futuros ou melhoria do biocomposto produzido, como por exemplo, a presença de bactérias que degradam materiais lignocelulósicos. Com o devido controle dos tipos de materiais recebidos e utilização nas leiras e o monitoramento das atividades microbianas, poderá entender como surgiu a presença destas bactérias e fungos e também como utilizar desta como uma fonte de enzimas capazes de degradar celulose e material lignocelulósico com mais facilidade.

## 11. Considerações finais

As matérias primas/insumos disponíveis para produção da (bio)compostagem recebidas pelo aterro como: terra diatomácea (argila), farelo de soja, farelo de milho misturado com componentes de ração animal, resíduos da limpeza de milho, resíduo de incubatório de aves e outros, vísceras de frango, resíduo estomacal de suínos, vísceras de suínos, carvão e outros podem ser misturados e decompostos em produtos fertilizantes e ricos em matéria orgânica (MO) para uso agrícola e redução dos impactos ambientais.

Os resultados experimentais mostraram que o composto analisado, atualmente, falta uma padronização inicial e controle de materiais postos as leiras, por conta dos resíduos recebidos em diferentes fontes e sazonalidade, sendo inviável para fins comerciais na situação atual.

Pode-ser-á estabelecer uma estratégia de mistura das leiras após a maturação, que foram produzidas em tempos diversos, a partir da análise de composição, para fins de padronização e/ou uso específico dos (bio)compostos livres ou em misturas diversas para uso de fertilização de solos e em culturas vegetais.

A estratégia de misturas pode ser uma opção interessante para regularização dos conteúdos de micro e macronutrientes dos produtos da compostagem, sanitização e segurança biológica dos produtos; além de permitir que a (bio)compostos maturem no espaço do aterro para fins de controle biológico de espécies patógenas a partir da submisssão as condições climáticas, principalmente, calor, umidade e radiações ultravioletas (UVs) com as devidas proteções e cuidados.

Com as atividades microbianas encontradas nas análises, mostra que para pesquisas e trabalhos futuros é possivelmente, após controlar sobre os tipos de materiais recebidos e utilização nas leiras, usar acelerador bactérias do gênero *Actinumadura*, onde algumas espécies desse gênero secretam enzimas capazes de degradar celulose e material lignocelulósico com mais facilidade. Podendo assim, ser um material alternativo para fins comerciais.

Com Contagem dos fungos e bactérias em meio Petrifilm EC, PCA, PCA com fluconazol e BDA, houve uma grande quantidade de fungos para amostra de 1 mês, porém, nesse caso, associada à falta de composto antifúngico no meio, ocorreu uma grande população destes na amostra de 1 mês, o que pode acontecer com qualquer amostra nestas condições. Inclusive, pela contagem feita no meio apropriado, observa-se que a população bacteriana é maior que a de fungos em ambas as amostras,

mantendo-se em 10<sup>7</sup>, enquanto a de fungos cai. Por fim, teve-se uma redução significativa dos fungos de 1 mês (10<sup>6</sup>) pra 6 meses (10<sup>4</sup>).

Pode-se observar os altos conteúdos de ferro, enxofre, manganês. Uma possível alternativa para equilíbrio na situação atual, seria o uso de bioaumentação, que envolve a adição de microrganismos que são capazes de transformar metais pesados em formas menos tóxicas ou até mesmo degradar completamente os contaminantes retendo por complexação e controlar a disponibilidade no solo e permitir bioabsorção pelas plantas e microrganismos diluindo os impactos biológicos e ambientais.

É importante a continuidade dos estudos por análises periódicas do solo com uso da (bio)compostagem para monitorar a presença de metais pesados, e outros, além de implementar medidas de controle e tratamento de forma preventiva. Neste aspecto, recomenda-se o monitoramento regularmente o teor de umidade do solo e, se necessário, controle de umidade por uso de um medidor de umidade ou uso de técnicas simples como apertar um punhado de solo com as mãos e observando aspecto, aglutinação e textura. Também, acompanhamento do comportamento da temperatura diariamente com o auxílio de um termômetro digital com leitura realizada em três pontos diferentes, sendo eles topo, centro e base. A medição deste parâmetro pode ser realizada sempre às 07h00min da manhã.

Amostras devem ser retiradas durante o revolvimento das pilhas para monitoramento. Controlar o pH utilizando um pHmetro digital; os teores sólidos voláteis estimados com base na quantidade de cinzas; e o teor umidade, podendo ser determinado com auxílio de balança analítica e estufa.

As análises genômicas com amostras do biocomposto (3 (três) amostras), mostraram que somente 2 (duas) possuíam quantidade e integridade de DNA para o sequenciamento. Estas amostras foram obtidas de diferentes leiras em posições diferenciadas de coleta em ambiente aberto e sujeita as condições climáticas. Uma possível explicação para as baixas concentrações de DNA pode ser o longo tempo de armazenamento das amostras e degradação por fatores climáticos, antes do início das análises. Um total de 132.011 sequencias de DNA restaram após todas análises de qualidade, sendo 24.298 sequencias de bactérias e 107.713 de fungos.

Na classificação taxonômica de bactérias 11 (onze) filos foram detectados, e os 3 (três) grupos maiores foram Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes e Bacteriodota. Os 3 (três) gêneros que mais se destacaram foram *Ohtaekwangia* que pertence ao filo

Bacteriodota. Sacchromonosprora e Actinomadura que pertencem ao filo Actinomycetota.

Para fungos, a taxonômica detectou 2 (dois) filos, sendo *Ascomycota* com um grande número de representantes e uma tímida participação do filo *Mucoromycota*. Já para gêneros de fungos, 3 (três) principais se destacaram em ordem de grandeza decrescente: *Stolonocarpus, Cephaliophora e Epicoccum*. Esses 3 (três) gêneros são integrantes do filo *Ascomycota*.

Pode-se perceber que a caracterização do (bio)composto é possível, porém a falta do controle de recebimento dos resíduos por análises, mistura e processamento, períodos e sazonalidade podem dificultar a compreensão de alguns aspectos, como o surgimento da *Epicoccum thailandicum* é o fungo patogênico que infecta as folhas de *Amomum villosum*, por exemplo. Ou ainda, a presença da bactéria de espécie *Actinomadura madurae*.

Porém, o trabalho cumpriu com a caracterização do produtos final, identificando parte da microbiota e os microrganismos presentes por análise genômica a partir da extração do DNA, mesmo com a não viabilidade de 1 (uma) das 3 (três) amostras de 6 (seis) meses, com resultado não conclusivo. Este resultado pode mostrar que há irregularidade quando a estocagem, manuseio e controle de materiais. Pois, todos estes fatores mencionados, contribuem para a falta de equilibro quanto ao produto final.

A descoberta destes, ajuda a entender as atividades microbianas do solo, em relação a disponibilidade de nutrientes, ou a falta deles. Ou seja, tanto na rizosfera de outras plantas ou na degradação de lignocelulose, quando temos a presença destes microrganismos, significa que, quando dispostos em condições adequadas, irá ser benéfico para o desenvolvimento das atividades em cultura, disponibilizando nutrientes, ou na degradação de materiais lignocelulósicos.

A produção em grandes quantidades deste compostos pode ser comercializado, desde que atenda as exigências mínimas de qualidade prevista na Portaria N. 01/1983 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA [3].

# 12. Propostas futuras de estudo:

Sugere-se utilizar materiais diversos, não apenas os resíduos agroindustriais recebidos pelo aterro, mas outros produtos adequadamente utilizados como: isopor, papelão, resíduos diversos encontrados no aterro que podem ser preparados, adequados

e/ou (bio)decompostos para complementos de conteúdos, formulação e funcionalidade físico-quimico e biológica nos (bio)fertilizantes e/ou insumos agrícolas, principalmente, para usos específicos ou geral para as culturas, fertilização e/ou demandas agrícolas. O uso de materiais lignocelulósicos, pós de rocha/mineralização e desenvolvimento de tecnologias como por exemplo, a peletização ou nucleação de grânulos fertilizantes para uso em máquinas de adubação, calcareamento, semeadura em campos agrícolas e outras tecnologias agrícolas para adequação da biocompostagem em tecnologias que considerem aglutinação, controle de liberação, microencapsulamentos e revestimentos nutritivos ou protetivos podem ser possíveis.

#### 13. Referências

- [1] Analyzing Trace Elements With EPA Method 6010 | Thermo Fisher Scientific BR. Disponível em:
- <a href="https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/environmental-learning-center/environmental-resource-library/us-epa-methods/analyzing-trace-elements-epa-method-6010.html">https://www.thermofisher.com/br/en/home/industrial/environmental-learning-center/environmental-resource-library/us-epa-methods/analyzing-trace-elements-epa-method-6010.html</a>>. Acesso em: 9 abr. 2023.
- [2] AFGAN, Enis et al. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update. Nucleic acids research, 2022.50, Issue W1, 5 July 2022, Pages W345–W351, doi:10.1093/nar/gkac247
- [3] 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. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2009 dez 30; Seção 1:81-4.
- [4] BRASIL. Lei nº 12.305, de 02 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Disponível em: Acesso: 16 jun. 2022.
- [5] BELLAVER, C. Alternativa sustentável para os resíduos industriais: compostagem acelerada. Graxaria brasileira: indústria de farinha e gordura animal, São Paulo, v. 3, n. 17, set./out. 2010.
- [6] BOLYEN, Evan et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. Nature biotechnology, v. 37, n. 8, p. 852-857, 2019.

- [7] BONIFAZ, Alexandro et al. Actinomycetoma by Actinomadura madurae. Clinical and therapeutic characteristics of 18 cases with two treatment modalities. Journal of Dermatological Treatment, v. 33, n. 2, p. 954-958, 2022.
- [8] BONANOMI, G.; GAGLIONE, S. A.; CESARANO, G.; SARKER, T. C.; PASCALE, M.; SCALA, F.; ZOINA, A. Frequent applications of organic matter to agricultural soil increase fungistasis. Pedosphere, v. 27, p. 86-95, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/s1002-0160(17)60298-4..
- [9] Castella, Paulo; agronomo, Engenheiro. Material complementar -Ciclo de Palestras: "Resíduos Sólidos" CRONOLOGIA HISTÓRICA MEIO AMBIENTE Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos CRONOLOGIA HISTÓRICA. 2016. Disponível em:
- <a href="http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/educacao\_ambiental/evolucao\_historica\_ambiental.pdf">http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/educacao\_ambiental/evolucao\_historica\_ambiental.pdf</a>.
- [10] Carvalho et al. (2002); Instituto Adolfo Lutz (2008). Disponível em: <a href="https://lume-re-demonstracao.ufrgs.br/composicaoalimentos/cinzas/det\_viaseca.php">https://lume-re-demonstracao.ufrgs.br/composicaoalimentos/cinzas/det\_viaseca.php</a>. Acesso em: 07 abr. 2023.
- [11] CLESCERI, L. S. et al. Standart Methods for the Examination of Water and Watewater. 20. ed. Washington: United Book Press. 1998.
- [12] CHAVES, G; BARBOZA, J. R.; ALCÂNTARA, R. L. C. Medidas de Desempenho para Avaliação da Logística Reversa. IN: XXXI ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO ENEGEP, 2011, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte, 2011. CD-ROM.
- [13] PIB do Agronegócio Brasileiro Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada CEPEA-Esalq/USP. Disponível em: <a href="https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx">https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx</a>. Acesso em: 21
- <a href="https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx">https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx</a>. Acesso em: 21 fevereiro. 2023.
- [14] Cerqueira DA, Rodrigues-Filho G, Meireles CS. Optimization of sugarcane bagasse acetylation. Carbohydrate Polymers. 2007; 69:579-82.
- [15] Costa, L.; Mendonċa, F. M. de; Souza, R. G. de. O que é Logística Reversa. In: Pontes, A. T.; Infant, C. E. D. de C.; MOURA, E. S.; Mendonċa, F. M. de; Braconi, J.; Chum, J. C. B.; Cost, L.; Souza, M. R. de; Cost, M. M.; Souza, R. G. de (org.). Logística Reversa: processo a processo. São Paulo: Atlas, 2014. Cap. 2. p. 19-24.
- [16] Demirbas, A. Relationships between heating value and lignin, moisture, ash, and extractive contents of biomass fuels. Energy Exploration & Exploitation 2002, 20, 105.
- [17] Dias MOS, Junqueira TL, Cavalett O, Pavanello LG, Cunha MP, Jesus CDF, Bonomi A. Biorefineries for the production of first and second generation ethanol and electricity from sugarcane. Applied Energy. 2013;109:72-8.

- [18] DUAN, Yumin et al. Evaluating the impact of bamboo biochar on the fungal community succession during chicken manure composting. Bioresource technology, v. 272, p. 308-314, 2019.
- [19] DOMINGUES, R. R. Estabilidade da matéria orgânica e teores de metais pesados em solo tratado sucessivamente com lodo de esgoto. 2013. 97f. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- [20] Greenhalf, C. E.; Nowakowski, D. J.; Yates, N.; Shield, I.; Bridgwater, A.V. The influence of harvest and storage on the properties of fast pyrolysis from Miscanthus x giganteus. Biomass and Bioenergy 2013, 56, 247.
- [21] Grover, P. D.; Mishra, S. K. Biomass Briquetting: Technology and practices. FAO 1996.
- [22] Goelzer FDE, Faria-Tischer PCS, Vitorino JC, Sierakowski MR, Tischer CA. Production and characterization of nanospheres of bacterial cellulose from Acetobacter xylinum from processed Rice bark. Materials Science and Engeneering C. 2009;29:546-51.
- [23] GOMES, C. B. Análise química por espectrometria de absorção atômica. In: TRESCASES, J. J. Técnicas Analíticas Instrumentais Aplicadas à Geologia. São Paulo: Edgard Blucher Itda, 1984. p. 44 83.
- [24] Hamelinck CN, Hooijdonk GV, Faaij AP. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short- middle- and long-term. Biomass and Bioenergy 2005;28(4):384-410.
- [25] HERNÁNDEZ-LARA, Alicia et al. Bacterial and fungal community dynamics during different stages of agro-industrial waste composting and its relationship with compost suppressiveness. Science Of The Total Environment, v. 805, p. 150330, 2022.
- [26] HUSON, Daniel H. et al. MEGAN-LR: new algorithms allow accurate binning and easy interactive exploration of metagenomic long reads and contigs. Biology direct, v. 13, n. 1, p. 1-17, 2018.
- [27] INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA IPEA. Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvipastoril e Agroindústrias Associadas: Relatório de Pesquisa. Brasília, 2012.
- [28] INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA IPEA. Diagnóstico dos Resíduos Sólidos do Setor Agrossilvipastoril: Resíduos Sólidos Inorgânicos. Relatório de Pesquisa. Brasília, 2013.
- [29] Jiang, J., Wang, Y., Liu, J., Yang, X., Ren, Y., Miao, H., Pan, Y., Lv, J., Yan, G., Ding, L., 2019. Explorando os mecanismos de degradação da matéria orgânica e emissão de metano durante a compostagem de lodo de esgoto com adição de vesuvianita: insights sobre a previsão da função metabólica microbiana e atividade enzimática. Biorecurso. Tecnol. 286, 121397.

- [30] JUNQUEIRA, C. P.; STERCHILE, S. P. W.; LIMA, J. F. O crescimento econômico agrícola dos estados da Região Sudeste do Brasil 1995/2005. Organizações Rurais e Agroindustriais, Lavras, v. 11, n. 3, p. 407-419, 2009.
- [31] Kadam KL, Forrest LH, Jacobson WA. Rice straw as a lignocellulosic resource: collection, processing, transportation, and environmental aspects. Biomass and Bioenergy. 2000; 18:369-89.
- [32] LEITE, P. R.. Logística reversa na atualidade. In: JARDIM, A.; YOSHIDA, C.; MACHADO FILHO, J. V. Política Nacional, Gestão e Gerenciamento de Resíduos Sólidos. Barueri, SP: Manole Ltda, 2012. Cap. 14. p. 337-353.
- [33] LEE, J; et al. Attenuation of landfill leachate at two uncontrolled landfills. Environment Geology, v. 51, p. 581-593, 2006.
- [34] LI, Jiao et al. Succession of fungal dynamics and their influence on physicochemical parameters during pig manure composting employing with pine leaf biochar. Bioresource Technology, v. 297, p. 122377, 2020.
- [35] Li T, Di Z, Islam E, Jiang H, Yang X (2011) Rhizosphere characteristics of zinc hyperaccumulator Sedum alfredii involved in zinc accumulation. Journal of Hazardous Materials 185: 818-823.
- [36] LIU, Q.; HE, X.; LUO, G.; WANG, K.; LI, D. Deciphering the dominant components and functions of bacterial communities for lignocellulose degradation at the composting thermophilic phase. Bioresource Technology, v. 348, p. 126808–126808, 1 mar. 2022. Disponível em:
- <a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422001377">https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852422001377</a>. Acesso em: 17 fev. 2023.
- [37] MARTINS, Guilherme Lucio et al. Physicochemical and bacterial changes during composting of vegetable and animal-derived agro-industrial wastes. Bioresource Technology, v. 376, p. 128842, 2023.
- [38] MALISORN, Kingchan et al. Actinomadura rhizosphaerae sp. nov., isolated from rhizosphere soil of the plant Azadirachta indica. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 68, n. 9, p. 3012-3016, 2018.
- [39] Ma, J., Mu, L., Zhang, Z., Wang, Z., Kong, W., Feng, S., Li, A., Shen, B., Zhang, L., 2021. Influência da assistência térmica na biodegradação de orgânicos durante a biosecagem de resíduos alimentares: estimulação microbiana e avaliação energética. Quimiosfera 272, 129875.
- [40] Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos, MAPA, 2017.

- [41] Mckendry, P. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. Bioresource Technology 2002, *83*, 37.
- [42] MOS Dias *e cols*. Biorrefinarias para produção de etanol de primeira e segunda geração e eletricidade a partir da cana-de-açúcar. Appl. Energia. (2013).
- [43] NUNES, Maria Urbana Corrêa. MANEJO DA LEIRA PORTAL EMBRAPA. Disponível em:
- <a href="https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/coco/pos-producao/coprodutos/casca-fibras-e-po-/biodegradacao-de-residuos-do-coqueiro/manejo-da-leira#:~:text=A%20umidade%20no%20interior%20da,comprimi%2Dlo%20com%20bastante%20for%C3%A7a.>. Acesso em: 25 maio. 2023.
- [44] OVIEDO, M. P. Bagaço de uva: produto nobre na alimentação humana. 2005.
- [45] Pascual, J A, M. Ros, P. Fernandez, A. Bernal, and A. Lacasa. "Future Of Compost As An Alternative To Chemical Compounds In Ecological Agriculture." *WIT Transactions on Ecology and the Environment* 78 (2004): WIT Transactions on Ecology and the Environment, 2004, Vol.78. Web.
- [46] PESSIN, N.; SILVA, A. R.; PANAROTTO, C. T. Monitoramento de aterros sustentáveis para município de pequeno porte. In: JUNIOR, A. B. D. C. (Org.) Resíduos sólidos Urbanos: Aterro sustentável para município de pequeno porte. Florianópolis: PROSAB, 2003. p.142-197. Disponível em:
- <a href="http://www.finep.gov.br/prosab/livros/ProsabArmando.pdf">http://www.finep.gov.br/prosab/livros/ProsabArmando.pdf</a>. Acesso em: 10. jun. 2023.
- [47] PHILIPPOT, L. et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. Nature Reviews Microbiology, New York, v. 11, p. 789–799, 2013.
- [48] RAMADAN, Ahmed M.; NAZAR, Mohammad AH; GADALLAH, Nour O. Metagenomic analysis of rhizosphere bacteria in desert plant Calotropis procera. Geomicrobiology Journal, v. 38, n. 5, p. 375-383, 2021.
- [49] Rodrigues, A., França, J., Silveira, R., Silva, R., Ros, C., & Kemerich, P. D. Compostagem de resíduos orgânicos: eficiência do processo e qualidade do composto. *ENCICLOPEDIA BIOSFERA*. v. 11, n. 22, 2015. Disponível em: https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1500
- [50] RODRIGUES, Cristine; WOICIECHOWSKI, Adenise Lorenci; LETTI, Luiz Alberto Junior; KARP, Susan Grace; GOELZER, Francieli Danubia; SOBRAL, Keli Cristina Alvim; CORAL, Jesus Davi; CAMPIONI, Tania Sila; MACENO, Marcelo Adriano Corrêa; SOCCOL, Carlos Ricardo; "Materiais lignocelulósicos como matéria-prima para a obtenção de biomoléculas de valor comercial", p. 283 -314. In: Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2017.
- [51] Sánchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. Biotechnology Advances. 2009;27(2):185-94.

- [52] SANTOS, C. C.; BELLINGIERI, P. A.; FREITAS, J. C. Effect of the application of chicken litter composts on chemical properties of a Typic Haplorthox soil cultivated with sorghum [Sorghum bicolor (L.) Moench]. Científica, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 134-140, 2004.
- [53] SHANKI, W. A. N. G. et al. Leaf disease caused by Epicoccum thailandicum on Amomum villosum in China. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, v. 51, n. 1, p. 13021-13021, 2023.
- [54] SPADOTTO, C. A.; RIBEIRO, W. C. Gestão de resíduos na agricultura e agroindústria. Botucatu: FEPAF, 2006.
- [55] SCHMIEDER, Robert; EDWARDS, Robert. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. Bioinformatics, v. 27, n. 6, p. 863-864, 2011.
- [56] SOLANS, Mariana; GERNOT, Vobis. Saprophytic actinomycetes associated to the rhizosphere and rhizoplane of Discaria trinervis. Ecologia Austral, v. 13, n. 01, p. 097-107, 2003.
- [57] SUN, Yu et al. Microecological insight to fungal structure and key fungal communities regulating nitrogen transformation based on spatial heterogeneity during cow manure composting by multi-angle and multi-aspect analyses. Waste Management, v. 142, p. 132-142, 2022.
- [58] TIE, Jianzhong et al. Yield and Rhizosphere Soil Environment of Greenhouse Zucchini in Response to Different Planting and Breeding Waste Composts. Microorganisms, v. 11, n. 4, p. 1026, 2023.
- [59] TOMÉ JUNIOR, J. B. Manual para Interpretação de Análise de Solo. 1 ed. Guaíba: Agropecuária ltda, 1997. 247p.
- [60] WAN, Jinxin et al. Livestock manure type affects microbial community composition and assembly during composting. Frontiers in Microbiology, v. 12, p. 621126, 2021.
- [61] WANG, Jiaqin et al. Effect of microbial inoculation on physicochemical properties and bacterial community structure of citrus peel composting. Bioresource Technology, v. 291, p. 121843, 2019.
- [62] WANG, Mei et al. Effect of fertilization combination on cucumber quality and soil microbial community. Frontiers in Microbiology, v. 14, p. 1122278, 2023.
- [63] YIN, Yi-Rui et al. Expression and characteristics of two glucose-tolerant GH1 β-glucosidases from Actinomadura amylolytica YIM 77502T for promoting cellulose degradation. Frontiers in Microbiology, v. 9, p. 3149, 2018.
- [64] ZHANG, Xiaomei et al. Exploring dynamics and associations of dominant lignocellulose degraders in tomato stalk composting. Journal of Environmental Management, v. 294, p. 113162, 2021.

- [65] Zhu, N., Zhu, Y., Li, B., Jin, H., Dong, Y., 2021. Aumento das atividades enzimáticas e fungos degradadores por Gloeophyllum trabeuma inoculação melhora a eficiência da degradação da lignocelulose durante a compostagem de esterco-palha. Biorecurso. Tecnol. 337, 125427.
- [66] ZHU, Ning et al. Effects of two-stage microbial inoculation on organic carbon turnover and fungal community succession during co-composting of cattle manure and rice straw. Bioresource technology, v. 341, p. 125842, 2021.
- [67] Classificação de risco dos agentes biológicos, Instituto de química. Disponível em: <a href="https://www.iq.usp.br/portaliqusp/?q=pt-br/biosseguranca/classificacao-de-risco-dos-agentes-biologicos">https://www.iq.usp.br/portaliqusp/?q=pt-br/biosseguranca/classificacao-de-risco-dos-agentes-biologicos</a>. Acesso em: 31 ago. 2023.

#### ANEXO I

#### 1. Metodologias aplicadas em laboratório

#### 1.1 Teor de cinzas

Aplica-se em alimentos em pó (rações, cercais, farinhas, farelos). Caso o alimento seja sólido (grãos. biscoitos, carnes, massas), devem ser triturados antes de iniciar a análise CARVALHO et al. (2002); INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

- 1. Pesar com exatidão, em cadinho calcinado (submetido à queima em forno mufla 550°C, resfriado e mantido em dessecador), 5g de amostra. Anotar o peso do cadinho vazio e o peso da amostra. Ao manipular o cadinho, deve ser utilizada a tenaz.
- **2.** Começar a incineração aos poucos, em bico de Bunsen, procurando aquecer igualmente todas as faces do cadinho (muito cuidado para a amostra não pegar fogo).
- **3.** Quando o produto estiver transformado em uma massa de carvão, transferir o cadinho para o forno mufla a 550°C, deixando-o por um espaço de tempo suficiente para a total destruição da matéria orgânica, até obter cinzas brancas (no caso de não branquear, adicionar algumas gotas de água destilada e levar à mufla novamente).
  - 4. Deixar, então, que a temperatura diminua até, pelo menos, 150°C.
- **5.** Retirar o cadinho e deixar esfriar completamente em dessecador por, aproximadamente, 25min.
  - **6.** Pesar e anotar o peso.

Fazer o cálculo é através da regra de três: o peso da cinza é a diferença entre o peso final do cadinho e o peso do cadinho vazio x a % CINZAS.

**Tabela 17.** As amostras foram separadas da seguinte forma:

MASSA
24,4998g
26,9397g
2,3710g
4,4151g

**Tabela 18.** Segunda leva de amostras sobre teor de cinzas.

AMOSTRA	Tara cadinho	Solo Úmido	Solo seco+cadinho	Solo seco	Solo Mufla+Cadinho	Solo após mufla	%C total
1	32,487	3,094	34,749	2,262	32,937	0,450	80,11
2	37,280	3,214	39,395	2,115	37,803	0,523	75,27
3	37,140	3,225	39,292	2,152	37,842	0,702	67,38

As massas iniciais foram submetidas a um aquecimento de 100°C para retirar toda umidade presente. Após isso, as amostras ficaram na estufa durante 24 horas a 100°C para tirar toda e qualquer água presente. Após estes procedimentos, a calcinação foi feita a uma temperatura de 800°C, ficando 40min. A pesagem final ficou:

Tabela 19. Pesagem final

IDENTIFICAÇÃO	MASSA
Massa do cadinho 1	1,3832g
Massa do cadinho 2	2,5021g

Com os cálculos expressados no anexo 1, a porcentagem final ficou aproximadamente 63,3% de teor de cinza nas amostras.

## 1.3 Extração de cátions

A análise de cátions trocáveis foi realizada em duas etapas sequenciais: primeiro é feito a extração e, em seguida, a determinação e/ou quantificação do que foi extraído. Os cátions extraídos ficarão solubilizados no sobrenadante, no qual, será determinado quanto foi extraído. Para um mesmo nutriente, mesmo que sejam utilizados diferentes extratores, o método de determinação poderá ser o mesmo, pois as reações químicas e/ou aparelhos analisam íons e moléculas solúveis, independentemente da origem, (TOMÉ JUNIOR, 1997). A técnica utilizada para extrair os cátions presentes na TDR foi baseada na metodologia de digestão ácida utilizada por (GOMES, 1984). O procedimento analítico consiste em:

- 1 Pesar 1 grama da amostra e diluir em 5 ml de ácido sulfúrico concentrado;
- 2 Aquecer a amostra em manta aquecedora durante uma hora, para completa digestão da amostra;

3 – Filtrar a amostra em papel de filtro quantitativo e lavar várias vezes a amostra com água destilada, até o filtrado ser avolumado para 500 ml em um balão volumétrico.

Figura 18: Resíduos da Filtragem.



Fonte: autor

# 1.4 Determinação sólidos totais

A técnica utilizada para determinar sólidos totais na amostra do resíduo de terra diatomácea é descrita por (CLESCERI et al., 1998). Sólidos totais é o termo aplicado ao material residual deixado em um recipiente após a evaporação e subsequente secagem da umidade em água em um forno com temperatura entre 103 a 105 °C. O procedimento analítico consiste em:

- 1 Pesar uma fração da amostra, e colocar a temperatura de 105° C em estufa por 24 horas.
- 2 Retirar da estufa a amostra e colocar em um dessecador para esfriar e não adquirir umidade em água,
- 3 Após a amostra estar resfriada, pesar em balança analítica.
   Equação a ser usada para determinação dos sólidos totais é:

#### 1.5 Teor de umidade

O percentual de umidade do resíduo pode ser determinado pela equação no apêndice I.

## 1.6 Análise granulométrica

Tem por objetivo verificar a especificação granulométrica de fertilizantes orgânicos ou organominerais que venham a ser apresentados na forma de granulados, farelados ou pós.

## **Equipamentos**

- a) Peneiras com abertura de malha de:  $4,00 \text{ mm} 2,0 \text{ mm} 1,0 \text{ mm} 840 \text{ }\mu\text{m} 500 \text{ }\mu\text{m}$  e  $250 \text{ }\mu\text{m}$ , limpas, secas e taradas com precisão de 0,01 g, com fundo também pesado e tampa.
  - b) Agitador mecânico de peneiras.

**Tabela 20.** Medidas das peneiras usadas.

Natureza física do fertilizante	Peneiras
	(abertura da malha)
Granulado e mistura de grânulos	4,0 mm 2,0 mm e 1,0 mm
Microgranulado	2,0 mm e 1,0 mm
Pó	2,0 mm, 840 μm e 250 μm
Farelado	4,80 mm, 2,8 mm e 840 μm

Para os fertilizantes sólidos com indicação de garantias granulométricas mínimas diferentes das previstas no quadro acima, e constantes do registro do produto conforme legislação vigente, seguir o procedimento padrão de análise granulométrica (peneiramento e pesagem), utilizando as peneiras com abertura de malha conforme as especificações informadas do produto em análise.

c) Tampar o conjunto, fixar as peneiras no agitador e agitar durante 10 minutos. Pesar cada peneira e o fundo e calcular a fração neles retida; em seguida, calcular o percentual do material passante em cada peneira pelas expressões:

Figura 19. Equação para transformação em porcentagem.

Porcentagem da amostra passante na  $1^{\underline{a}}$  peneira =  $100 - \left(\frac{100R_1}{G}\right)$ 

Porcentagem da amostra passante na  $2^{\underline{a}}$  peneira  $= 100 - \left[\frac{100(R_1 + R_2)}{G}\right]$ 

Porcentagem da amostra passante na  $3^{\underline{a}}$  peneira (se houver) =  $100 - \left[\frac{100(R_1 + R_2 + R_3)}{G}\right]$ , sendo:

G = massa da amostra analisada, em gramas.

R1 = massa da fração retida na 1ª peneira especificada, em gramas.

R2 = massa da fração retida na 2ª peneira especificada, em gramas.

R3 = massa da fração retida na 3ª peneira especificada, em gramas.

## 1.7 Determinação sólidos totais fixos

A técnica utilizada para determinar sólidos totais na amostra do resíduo de terra diatomácea é descrita por (CLESCERI et al., 1998).

Sólidos totais fixos é o termo aplicado ao material residual deixado em um recipiente após a eliminação da matéria orgânica em uma mufla com temperatura acima de 550 °C. O procedimento analítico consiste em:

- 1 Transferir para mufla os sólidos totais e calcinar a 600°C por 1 hora.
- 2 Retirar da mufla a amostra e colocar em um dessecador para esfriar e não adquirir umidade em água,
  - 3 Após a amostra estar resfriada, pesar em balança analítica.

Figura 20: Resultado da calcinação.



Fonte: autor.

# 1.8 Determinação sólidos voláteis

A técnica utilizada para determinar sólidos voláteis na amostra do resíduo de terra diatomácea é descrita por (CLESCERI et al., 1998). Sólidos voláteis é o termo aplicado a matéria orgânica calcinada em uma mufla com temperatura abaixo de 550 °C. O procedimento analítico consiste em:

1 – Transferir para mufla os sólidos totais e calcinar a 500 °C por 1 hora.

- 2 Retirar da mufla a amostra e colocar em um dessecador para esfriar e não adquirir umidade em água,
  - 3 Após a amostra estar resfriada, pesar em balança analítica.

# 1.9 Determinação quantitativa de sílica

A determinação do percentual de sílica na amostra de terra diatomácea recuperada, foi baseado na técnica de gravimetria descrita por (BACCAN, 2001). O procedimento analítico consiste em:

- 1 Pesar aproximadamente 1 grama da amostra.
- 2 Fazer a digestão da amostra, conforme descrito na extração de cátions.
- 3 Após a digestão, filtrar a amostra em papel de filtro quantitativo e lavar várias vezes com água destilada.
- 4 Pesar a amostra retida no papel de filtro em balança analítica e em seguida calcinar a 550 °C, em uma mufla.
- 5 Terminada a calcinação, colocar a amostra no dessecador para resfriar e não adquirir umidade.
  - 6 Pesar a amostra em balança analítica.

# 1.10 Análise de pH em 1:10

Princípio e aplicação consistem em suspender a amostra em solução de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> e proceder à medida potenciométrica do pH. Aplica-se aos fertilizantes orgânicos. Os equipamentos usados são potenciômetro com termocompensador e eletrodo combinado, para a medida de pH, com sensibilidade de 0,01 unidade de pH.

# **Reagentes:**

- Soluções-tampão para calibração do pHmetro, de pH 4 e 7.
- Cloreto de cálcio dihidratado, p.a. CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O.
- Solução de cloreto de cálcio 0,01 mol L <sup>-1</sup>: pesar 1,47 g ± 1 mg do sal e dissolver em água. Transferir para balão volumétrico de 1000 ml, completar o volume com água e homogeneizar.

## **Procedimento**

- a) Pesar 10 g ( $\pm 1$  mg) da parte da amostra "in natura" reservada para tal, transferir para béquer de 100 ml, adicionar 50 ml da solução de CaCl2 0,01 mol L  $^{-1}$ , homogeneizar e aguardar 30 minutos, agitando de 10 em 10 minutos.
- **b)** Ligar o potenciômetro 30 minutos antes do uso e calibrá-lo com as soluções-tampão de pH 7 e 4. Trabalhos em série requerem a lavagem do eletrodo entre uma leitura e outra, com água, e secagem com papel-toalha ou similar.
- c) Medir o pH da solução ou suspensão da amostra pela inserção cuidadosa do eletrodo de forma que este se mantenha no nível da solução, sem entrar em contato com algum material decantado da amostra. Registrar a leitura.
- **d)** Expressar o resultado com a indicação "pH em solução de CaCl2 0,01 mol L

## 1.11 Análise de Nitrogênio Total

Princípio e aplicação deste método fundamentam-se na amonificação de todas as formas não amoniacais de nitrogênio, seguida da destilação alcalina da amônia, que é recebida numa quantidade em excesso de ácido bórico. O borato de amônio formado é titulado com ácido sulfúrico padronizado. Aplicável a todos os tipos fertilizantes, inclusive com conteúdo de matéria orgânica, exceto a nitrofosfatos contendo enxofre não sulfato.

Equipamento usado para este tipo de análise é o conjunto macrodigestor-destilador tipo Kjeldhal equipado com regulador de potência.

## Reagentes e soluções são:

- Pó catalítico de Raney p.a. (50% de Ni e 50% de Al, em massa)
- Ácido sulfúrico, p.a., H2SO4
- Sulfato de cobre, p.a., CuSO4.5H2O
- Sulfato de potássio, p.a., K2SO4.
- Zinco granulado 8 mesh, p.a.

**Solução de ácido sulfúrico - sulfato de potássio:** acrescentar, vagarosamente e com cuidado, 200 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 625 ml de água destilada e misturar. Sem esfriar, juntar 106,7 g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e continuar a agitação até dissolver todo o sal. Diluir a quase 1 litro e agitar. Esfriar, diluir para 1 litro com água destilada e homogeneizar.

**Solução de sulfeto ou tiossulfato:** Dissolver em água 40 g de K<sub>2</sub>S ou 80g de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O e completar o volume a 1 litro.

**Solução de hidróxido de sódio (NaOH)** com 450 g L<sup>-1</sup>. Pesar 450 g do regente P.A e dissolver em água. Esfriar e completar a l litro com água destilada.

**Indicador verde de bromocresol 1 g L**<sup>-1</sup>; pesar 0,25 g do indicador, triturar em almofariz com 7-8 ml de NaOH 4g L<sup>-1</sup>, transferir para um balão volumétrico de 250 ml e completar o volume com 1 litro de água destilada.

**Indicador vermelho de metila 1 g L**<sup>-1</sup>: Dissolver 0,1g de vermelho de metila em álcool etílico e transferir para um balão volumétrico de 100 ml. Completar o volume com álcool etílico.

**Indicador alaranjado de metila 1 g L**<sup>-1</sup>: Dissolver 0,1g do indicador em água destilada e completar o volume a 100 ml.

**Mistura de indicadores:** Misturar 1 volume da solução de vermelho de metila 1 g  $L^{-1}$  e 10 volumes da solução de verde de bromocresol 1 g  $L^{-1}$ 

Ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), 40 g L<sup>-1</sup> com indicadores: Pesar 40g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> P.A dissolver em água destilada morna. Esfriar e transferir para um balão volumétrico de 1.000 ml. Acrescentar 20 ml da mistura de indicadores e completar o volume com água destilada.

**Solução de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) aproximadamente 0,25M**: transferir 14 mL de ácido sulfúrico concentrado P.A para balão de 1.000 ml e completar o volume com água destilada.

#### **Procedimento**

a) Pesar uma quantidade de amostra de 0,2 a 2,0g, com aproximação de 0,1mg
 (G), para frasco Kjeldahl de 800 ml;

**Observação:** a massa inicial da amostra não deve conter mais de 42 mg de nitrogênio - nítrico

- **b)** Juntar 1,7g de pó catalítico de Ni Raney e 150 ml de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se houver mais de 0,6g de matéria orgânica, acrescentar 2,5 ml da solução ácida para cada 0,1g de matéria orgânica que exceder 0,6g
- c) Misturar o conteúdo, imprimindo rotações ao frasco Kjeldahl e colocá-lo sobre o aquecedor frio ou que esteja desligado a 10 minutos, no mínimo. Ligar o

aquecedor previamente regulado para o teste de 5 minutos. Quando iniciar a fervura, reduzir o aquecimento, regulando o digestor para teste de digestão de 10 minutos;

**Obs:** Teste de 5 e 10 minutos equivale a uma intensidade de aquecimento necessário para levar à ebulição 250 ml de água em balão de Kjeldahl de 800 ml, respectivamente, em 5 e 10 minutos.

- **d)** Depois de 10 minutos, suspender o frasco na posição vertical e juntar 1,0g de sulfato de cobre P.A e 15g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> P.A;
- e) Recolocar o frasco Kjeldahl na posição inclinada e aumentar o aquecimento regulando para o teste de digestão de 5 minutos (caso haja formação de espuma suspender o Kjeldahl ou diminuir a intensidade de aquecimento). Aquecer, com aquecedor regulado para teste de digestão de 5 minutos, até os densos fumos brancos de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tornarem o bulbo do frasco límpido. A digestão está completa para amostras contendo somente N amoniacal, nítrico e amídico. Para outras formas de nitrogênio, agitar, por rotação, o frasco e continuar a digestão por 30 minutos. Para amostras com conteúdo orgânico, continuar por 2 horas.
- **f)** Esfriar, juntar 200 ml de água destilada e 25 ml de solução de tiossulfato de sódio ou de sulfeto de potássio, e homogeneizar.

## Determinação

- **a)** Juntar 3-4 grânulos de Zinco, inclinar o frasco Kjeldahl, adicionar 105 ml de solução de NaOH a 450 g L<sup>-1</sup>, sem agitar o frasco;
- **b)** Ligar imediatamente o frasco Kjeldahl ao conjunto de destilação, com a ponta do condensador já mergulhada no Erlenmeyer de 500 ml contendo 50 ml da solução de ácido bórico 40 g L<sup>-1</sup> com a mistura de indicadores;
- c) Agitar o conteúdo, imprimindo rotações ao frasco Kjeldahl, e aquecer para destilar, recebendo, no mínimo 150 ml do destilado;
  - d) Retirar o Erlenmeyer e lavar a ponta do condensador;
- e) Titular com solução de ácido sulfúrico padronizada 0,25 M e anotar o volume
   (V1);
  - **f)** Fazer uma prova em branco(V2);
  - g) Calcular o teor de nitrogênio na amostra pela expressão:

 $\% N = \frac{2,8014 (V_1 - V_2)M}{G}$ 

- V1 = volume (ml) do ácido gasto na titulação da amostra
- **M** = concentração molar (exata) da solução de ácido sulfúrico.
- V2 = volume (ml) do ácido gasto na titulação da prova em branco.
- **G** = massa inicial da amostra, em grama.

## 1.12 Fósforo Total (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)

Princípio e aplicação desta análise consistem na solubilização do fósforo da amostra por extração fortemente ácida e posterior precipitação do íon ortofosfato como fosfomolibdato de quinolina, o qual é filtrado, secado e pesado.

# **Equipamentos**

- Cadinho de vidro sinterizado de 30-50 ml, com placa porosa de porosidade média a fina;
- Frasco kitassato de 1.000 ml;
- Bomba de vácuo,
- Mufla.

#### **Procedimento**

- **a)** Pesar 1,0 g da amostra, com aproximação de 0,1 mg (G), e transferir para béquer de 250 ml; adicionar 30 ml de ácido nítrico e 5 ml de ácido clorídrico concentrados. Ferver até cessar o desprendimento de vapores castanhos (NO<sub>2</sub>) e a solução clarear.
  - **b)** Adicionar 50 ml de água destilada e ferver por 5 minutos. Esfriar;
- c) Transferir para balão volumétrico de 250 ml, completar o volume com água destilada e homogeneizar;
  - d) Filtrar através de papel de filtro de porosidade média, seco;
- e) Desprezar os primeiros 20 a 30 ml e separar um volume de filtrado límpido, suficiente para a determinação.

# Determinação

a) Pipetar uma alíquota (A) do extrato contendo de 10 a 25 mg de  $P_2O_5$  (250/G.g  $\leq$  A  $\leq$  625/G.g, sendo G = peso da amostra em gramas e g = garantia %) e transferir

para béquer de 400 ml; ajustar o volume a 100 ml com água destilada e aquecer até o início de fervura;

- **b)** Adicionar 50 ml de reagente "Quimociac" e ferver durante 1 minuto, dentro da capela;
- c) Esfriar à temperatura ambiente, agitando cuidadosamente, 3 a 4x vezes durante o resfriamento;
- **d)** Filtrar, sob a ação de vácuo, em cadinho de placa porosa, previamente secado a 250°C e tarado; lavar com 5 porções de 25 ml de água destilada, tendo o cuidado de adicionar cada porção após a anterior ter passado completamente;
- e) Secar durante 30 minutos a 250°C. Esfriar em dessecador e pesar como (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N)<sub>3</sub>H<sub>3</sub>[PO<sub>4</sub>.12 MoO<sub>3</sub>];
  - **f)** Calcular o percentual de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> da amostra pela expressão:

$$%P2O5 = 801,75 \text{ m},$$
AG

**m** = massa do precipitado, em grama.

**G** = massa inicial da amostra, em grama

A =volume da alíquota tomada do extrato, em ml.

# 1.13 Potássio Total (K<sub>2</sub>O)

Baseia-se na extração a quente do potássio solúvel em água, precipitação deste com uma quantidade em excesso de solução padronizada de tetrafenilhorato de sódio e titulação desse excesso com solução padronizada de brometo de cetil trimetil amônio (BCTA) ou cloreto de benzalcônio.

#### Reagentes e soluções

- a) Solução de hidróxido de sódio (NaOH), a 200 g L<sup>-1</sup>, em água.
- **b)** Formaldeído, H<sub>2</sub>CO, P.A a 37%.
- c) Solução de oxalato de amônio, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, a 40 g L<sup>-1</sup>: Pesar 40 g do reagente e dissolver em água destilada morna. Completar a 1 litro com água destilada.
- d) Solução do indicador amarelo de Clayton: Dissolver 0,040g de amarelo de Clayton (amarelo de titânio) em água e completar o volume a 100 ml. Homogeneizar.
- e) Solução de BCTA ou de cloreto de benzalcônio a 6,3 g L<sup>-1</sup>: Pesar 6,3 g de brometo de cetiltrimetilamônio (BCTA), p.a., ou cloreto de benzalcônio (Zefiran) e dissolver em água quente. Esfriar e completar o volume a 1 litro com água destilada.

No caso do cloreto de benzalcônio ou Zefiran, pode-se partir de soluções comerciais concentradas encontradas normalmente em fornecedores de produtos farmacêuticos

A equivalência entre esta solução e a de TFBS, referida à frente, deve ser de aproximadamente 2:1 em volume.

Para determinar a relação entre as soluções, em volume, transferir para Erlenmeyer de 125 ml:

- 1) 25 ml de água.
- 2) 1 ml de hidróxido de sódio a 200 g L<sup>-1</sup>.
- 3) 2,5 ml de formaldeído a 37%.
- 4) 1,5 ml de solução de oxalato de amônio.
- 5) 5,0 ml de solução de tetrafenilborato de sódio.
- **6)** 6 a 8 gotas de indicador amarelo de Clayton.

Titular com a solução de BCTA ou de cloreto de benzalcônio até a viragem para a cor rosa (V1). Em seguida calcular o fator de equivalência do volume da solução de TFBS correspondente a 1 ml de solução de cloreto de benzalcônio, pela expressão:

$$F_1 = 5$$
 $V_1$ 

onde: V1 = volume gasto da solução de BCTA ou cloreto de benzalcônio em ml. O fator deverá ser aproximadamente 0,5.

Fosfato monopotássico, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, PA padrão primário: Secar a 105°C durante 2 horas e esfriar em dessecador. Preparar uma solução padrão de fosfato monopotássico, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, dissolvendo 2,5000 g em água, adicionar 50 ml da solução de oxalato de amônio a 40 g L<sup>-1</sup> e completar o volume a 250 ml com água destilada. Homogeneizar. Essa solução contem 3,4613 mg de K<sub>2</sub>O por mililitro.

**Solução de tetrafenilborato de sódio (TFBS), NaB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>:** dissolver 12 g de tetrafenilborato de sódio PA, em 800 ml de água, adicionar 20 a 25 g de hidróxido de alumínio Al(OH)<sub>3</sub>, agitar durante 5 minutos e filtrar em papel de filtro de porosidade fina (filtração lenta). Caso o filtrado inicialmente se apresente turvo, refiltrá-lo. Adicionar 2 ml de hidróxido de sódio a 200 g L<sup>-1</sup> ao filtrado límpido e completar a 1 litro. Homogeneizar e deixar em repouso em recipiente de polietileno durante 2 dias antes da padronização.

## Padronização

- 1. Transferir uma alíquota de 10 ml da solução padrão de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> medida com uma pipeta volumétrica contendo 34,6133 mg de K<sub>2</sub>O, para um balão volumétrico de 100 ml;
- 2. Adicionar 2 ml de NaOH a 200 g L<sup>-1</sup>, 5 ml de formaldeído a 37% e 30,00 ml da solução de tetrafenilborato de sódio;
- **3.** Agitar lentamente evitando a formação de espuma. Completar o volume com água destilada, homogeneizar;
- **4.** Após 10 minutos, filtrar através de papel de filtro de porosidade fina, seco; v. Transferir uma alíquota de 50 ml de filtrado para um erlenmeyer de 250 ml e adicionar 6 a 8 gotas do indicador amarelo de Clayton;
- **5.** Titular o excesso da solução de tetrafenilborato de sódio, até a viragem para a cor rosa, com a solução de BCTA ou cloreto de benzalcônio. Anotar o volume gasto (V2);
- **6.** Em seguida, calcular o fator correspondente a mg de K<sub>2</sub>O por ml da solução de TFBS, usando a expressão:

$$F_2 = \frac{34,6133}{30,00 - 2 (V_2.F_1)}$$

onde:  $V_2$  = volume gasto de BCTA ou cloreto de benzalcônio em ml, F1 = fator da solução de BCTA ou cloreto de benzalcônio em relação ao TFBS.

## **Procedimento**

- a) Transferir 2,5 g da amostra com aproximação de 0,1 mg (G), para um béquer de 400 ml, adicionar 50 ml de solução de oxalato de amônio a 40 g  $L^{-1}$ , e 125 ml de água, ferver suavemente durante 30 minutos. Se a amostra contiver matéria orgânica, juntar 2 g de carvão ativo, isento de  $K_2O$ , antes da fervura;
- **b)** Esfriar, transferir para um balão volumétrico de 250 ml, completar o volume e homogeneizar;
- c) Filtrar através de papel de filtro de porosidade média para um béquer seco, desprezando os primeiros 20-30 ml.

#### Determinação

- a) Transferir uma alíquota (A) contendo 10 a 40 mg de  $K_2O$  (100/G.g  $\leq$  A  $\leq$  400/G.g, sendo G = peso em gramas e g = garantia em %) para um balão volumétrico de 100 ml, adicionar 2 ml de NaOH 200 g  $L^{-1}$  e 5 ml de formaldeído a 37%. Homogeneizar e deixar em repouso por 5 minutos;
- **b)** Adicionar 1 ml da solução de tetrafenilborato de sódio para cada 1,5 mg de K<sub>2</sub>O esperado e mais um excesso de 8 ml para garantir a precipitação;
- c) Completar o volume com água, agitar energicamente e após 10 minutos, filtrar em papel de filtro de filtração lenta;
- d) Transferir uma alíquota de 50 ml do filtrado para um Erlenmeyer de 250 ml, adicionar 6 a 8 gotas do indicador amarelo de Clayton e titular com a solução padrão de BCTA ou cloreto de benzalcônio, usando bureta semi-micro, até a viragem para a cor rosada  $(V_4)$ ;
  - e) Calcular o teor de potássio na amostra pela expressão:

% K2O = 
$$\frac{25F_2[V_3 - (2.V_4.F_1)]}{AG}$$

**onde:** V3 = volume (ml) da solução de TFBS adicionado, V4 = volume (ml) da solução de BCTA gasto na titulação, F1 = fator da solução de BCTA ou cloreto de benzalcônio e F2 = fator da solução de TFBS, G = massa inicial da amostra em grama

# 1.14 Cálcio (Ca)

Consiste na extração do cálcio da amostra e titulação do mesmo com solução padronizada de EDTA, após a eliminação dos interferentes. O método mais indicado para a avaliação de produtos com o teor de cálcio da ordem de grandeza de 5% ou acima.

- a) Transferir 100 ml do extrato para um béquer de 400 ml.
- **b)** Ajustar o pH da solução a  $4 \pm 0.1$ , com solução de KOH 200 g L<sup>-1</sup> utilizando um potenciômetro e agitador magnético para homogeneizar a solução. Se o pH passar de 4,1 corrigir com HCl (1+5 v/v). Para ajustar o pH nas proximidades do ponto desejado podem ser utilizadas soluções mais diluídas de KOH ou HCl.
- c) Adicionar um volume variável da solução de sulfato duplo de ferro III e amônio, de acordo com o teor de  $P_2O_5$  total do fertilizante (5 ml para fertilizantes com menos de 7% de  $P_2O_5$ , 10 ml para fertilizantes com 7 a 15% de  $P_2O_5$ , 15 ml para fertilizante com 16 a 30% de  $P_2O_5$  e quantidades proporcionais para fertilizante com mais de 30% de  $P_2O_5$ ).
- **d)** Ajustar o pH da solução a  $5 \pm 0.1$ , com solução de KOH 200 g L<sup>-1</sup> e corrigir, se necessário, com solução de HCl (1+5), ou soluções mais diluídas de ambos.
- e) Deixar esfriar e filtrar a suspensão do béquer para balão volumétrico de 250 ml com papel de filtro de porosidade média. Lavar o béquer e o resíduo com porções de água, acrescentando cada porção após a anterior ter percolado pelo resíduo, até obter um volume próximo de 200 ml. Completar o volume e homogeneizar.
- f) Transferir uma alíquota (A) de 25 a 50 ml do filtrado para um Erlenmeyer de 250 300 ml e adicionar 25-50 ml de água.
- g) Adicionar 10 ml de solução de hidróxido de potássio (KOH)/cianeto de potássio (KCN), 2 gotas da solução de trietanolamina, 5 gotas da solução de ferrocianeto de potássio e uma pitada (10-15 mg) do indicador calceína ou 5-7 gotas da solução do indicador Calgon.
- h) Colocar o frasco sobre um fundo branco e de preferência usar agitador magnético em frente a uma luz fluorescente. Titular imediatamente com a solução

padronizada de EDTA, agitando continuamente até a mudança permanente da cor do indicador: a calceina muda de verde fluorescente para vinho; o calcon muda de vinho para azul puro. Anotar o volume (V1) da solução de EDTA consumido.

- i) Desenvolver uma prova em branco (V<sub>2</sub>).
- j) Calcular a porcentagem de Cálcio mediante a expressão:

$$Ca_{(\%m/m)} = \frac{62,5t_1(V_1 - V_2)}{AG}$$

**onde:**  $V_1$  = volume da solução de EDTA consumido na titulação da alíquota da solução da amostra, em ml,  $V_2$  = volume da solução de EDTA consumido na titulação da prova em branco, em ml, t1 = fator da solução de EDTA expresso em mg de Ca por ml de EDTA, G = massa inicial da amostra, em gramas, A = volume da alíquota tomada para a titulação, em ml.

## 1.15 Magnésio (Mg)

- a) Seguir o procedimento da determinação do cálcio por EDTA, até o item "e".
   Na sequência:
- **b)** Transferir uma alíquota (A) de 25 a 50 ml do filtrado para um erlenmeyer de 250 300 ml e adicionar 25-50 ml de água. Tomar uma alíquota idêntica à utilizada na determinação do Cálcio.
- c) Adicionar 5 ml de solução tampão de pH 10, mais 2 ml de solução de KCN 20 g L<sup>-1</sup>, 2 gotas da solução de trietanolamina, 5 gotas de solução de ferrocianeto de potássio e 5-7 gotas de solução 51 do indicador negro de eriocromo T, homogeneizando após a adição de cada reagente.
- d) Colocar o frasco sobre um fundo branco e, de preferência, usar um agitador magnético; titular imediatamente com solução padronizada de EDTA agitando continuamente até que a solução passe da cor vinho para azul puro; anotar o volume gasto  $(V_3)$ , em ml.
  - e) Desenvolver uma prova em branco (V<sub>4</sub>).
  - f) Calcular a porcentagem de Mg pela expressão:

$$Mg_{(\%m/m)} = \frac{62.5t_2[(V_3-V_4)-(V_1-V_2)]}{AG}$$

onde: V1 = volume de EDTA consumido na titulação do cálcio, em ml,  $V_3$  = volume de EDTA consumido nesta titulação de (Ca+Mg), em ml,  $V_2$  e  $V_4$  = volumes de EDTA

consumidos na titulação das provas em branco, em ml,  $\mathbf{t2}$  = fator da solução de EDTA, expresso em miligramas de Mg por ml de EDTA,  $\mathbf{A}$  = alíquota tomada para a titulação, em ml,  $\mathbf{G}$  = massa inicial da amostra, em gramas.

## 1.16 Enxofre-Sulfato (SO<sub>4</sub>)

Consiste na extração do enxofre presente na composição dos fertilizantes minerais sob diversas formas, sua oxidação, quando necessário, e precipitação como sulfato de bário e quantificação deste precipitado.

## **Equipamentos**

- a) Bomba de vácuo.
- b) Mufla.
- c) Funil de filtração de Buchner, capacidade de 30-50 ml.

# Reagentes

- a) Ácido clorídrico concentrado, HCl, PA
- **b)** Solução de cloreto de bário dihidratado com 100 g L<sup>-1</sup>: pesar 100,0 g de BaCl<sub>2</sub> .2H<sub>2</sub>O, transferir para balão volumétrico de 1 L, adicionar 500 ml de água, agitar até dissolução do sal. Completar o volume com água e homogeneizar.
- c) Solução de nitrato de prata 10 g L<sup>-1</sup>: pesar 1,0 g de AgNO<sub>3</sub> e transferir para balão volumétrico de 100 ml, completar com água e homogeneizar. Guardar em frasco de vidro âmbar.
  - **d)** Álcool etílico (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) PA
- e) Solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) a 100 g L<sup>-1</sup>, em álcool etílico PA
  - f) Peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), a 30 % (m/m).

Aplicável aos fertilizantes minerais contendo o enxofre nas diversas formas – sulfeto, sulfito, sulfato, tiossulfato, elementar e/ou outras, e corretivos de alcalinidade à base de borra de enxofre.

- **a)** Pesar uma quantidade de amostra "G" que contenha de 20 a 100 mg de S provável, com precisão de 0,1 mg, e transferir para béquer de 250-300 ml.
- **b)** Adicionar 50 ml da solução alcoólica de KOH, cobrir com vidro de relógio e ferver lentamente, em capela, por 10 minutos. Cuidado com fagulhas, fogo, etc.

- c) Deixar esfriar e adicionar, em capela, com cuidado e aos poucos, 30 ml da solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30%, homogeneizando após cada adição. Caso forme muita espuma, adicionar pequena quantidade de álcool etílico. Deixar esfriar. Adicionar 10 ml de HCl concentrado ao filtrado e homogeneizar.
- d) Filtrar por papel de filtro de porosidade média (ou porosidade fina, se necessário) recebendo o filtrado em béquer de 400 ml; lavar as paredes do béquer e o retido no papel de filtro com pequenas porções de água, até fazer um volume de aproximadamente 200 ml. Cobrir com vidro de relógio e aquecer até próximo da fervura, mantendo esse aquecimento por 1 hora.

Obs.: Este procedimento deve promover a oxidação de todo o enxofre não sulfato presente na amostra, pela ação combinada de uma digestão alcalina e oxidação com peróxido de hidrogênio. Se ao término da etapa de extração ainda restarem partículas amarelas (enxofre elementar) no retido deve-se repetir o tratamento do resíduo, antes de passar à precipitação.

## Determinação e cálculo

- a) Aquecer o filtrado do procedimento de extração executado até a ebulição, adicionar 5-6 gotas da solução de cloreto de bário (BaCl<sub>2</sub>) e, após 1 minuto, acrescentar lentamente mais 15 ml da solução de cloreto de bário.
- b) Cobrir com vidro de relógio, manter aquecido em banho-maria, placa ou chapa aquecedora com aquecimento brando, sem fervura, durante uma hora. Remover, e aguardar a sedimentação do precipitado. Filtrar em papel de filtração lenta, de porosidade fina (faixa azul ou equivalente). Alternativamente, pode-se filtrar com sucção (bomba de vácuo) utilizando um funil de filtração de Buchner com o papel de filtração lenta perfeitamente ajustado de modo a não ocorrer perda de precipitado.

Observação: Deve-se confirmar a completa precipitação do sulfato, recolhendo-se uma alíquota dos primeiros volumes de filtrado (cerca de 30 ml), aquecer até próximo da fervura e adicionar a ela 5 ml da solução de cloreto de bário. Se ocorrer formação de precipitado ( $BaSO_4$ ), o procedimento deverá ser reiniciado tomando-se uma massa menor de amostra.

c) Lavar o precipitado com 10 porções de aproximadamente 25 ml de água a 80-90°C. Proceder ao teste do cloreto no filtrado, com 2-3 ml da solução de AgNO<sub>3</sub> 10 g

- L<sup>-1</sup>. O aparecimento de uma turvação/precipitado branco do AgCl confirma a presença de cloreto. Continuar a lavagem enquanto o teste de cloreto for positivo.
- **d)** Transferir o papel com o precipitado para um cadinho de porcelana previamente secado a 500 + 50°C e tarado. Levar à mufla para aquecimento até 800 °C, mantendo a porta entreaberta durante a fase inicial da elevação da temperatura. Fechar a porta do forno e conservá-lo a 800 + 40°C durante 30 minutos.
  - e) Retirar o cadinho, colocar em dessecador, esperar esfriar e pesar.
  - f) Calcular a porcentagem de enxofre mediante a expressão:

$$S_{(\%m/m)} = \frac{13,74m_p}{G}$$

**onde: mp** = massa do precipitado de BaSO4, em g, **G** = massa inicial da amostra, em gramas.

#### 1.17 Boro

Método volumétrico do D-manitol (D-sorbitol). O método baseia-se na complexação do boro com D-manitol ou D-sorbitol após sua solubilização, a quente, em meio ácido. A determinação é realizada pela titulação do complexo formado com solução de hidróxido de sódio padronizada. Indicado para produtos com teor de boro de 0,5 % em massa ou acima.

#### Equipamento

Potenciômetro para medida de pH, com sensibilidade de 0,05 unidade.

## Reagentes

- a) Solução estoque de ácido bórico: dissolver 1,0000 g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> PA, em água, transferir para balão volumétrico de 1 litro e completar o volume. Esta solução contem 0,1748 mg de boro por ml.
  - b) Solução de HCl (1+1), com água previamente fervida.
- c) Solução de HCl, aproximadamente 0,5 mol L<sup>-1</sup>: diluir 10 ml de HCl concentrado a 250 ml, com água previamente fervida.
- **d)** Solução de HCl, aproximadamente 0,02 mol L<sup>-1</sup>: pipetar 10 ml da solução de HCl aproximadamente 0,5 mol L<sup>-1</sup> e diluir a 250 ml com água previamente fervida.

- e) Solução alcoólica de vermelho de metila 1 g L<sup>-1</sup>: dissolver 0,1 g do indicador em 100 ml de álcool etílico a 90-95%.
  - f) Cloreto de sódio, NaCl PA
  - g) Bicarbonato de sódio, NaHCO<sub>3</sub> PA
  - h) D-manitol, p.a. ou D-sorbitol cristalizado PA
- i) Solução de nitrato de chumbo (Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) com 100 g L<sup>-1</sup>: pesar 10 g de nitrato de chumbo, dissolver em água fervida e completar o volume a 100 ml.
- **j)** Solução de NaOH com 20 g L<sup>-1</sup>, livre de CO<sub>2</sub>: dissolver 20 g de NaOH em 150-200 mL de água, esfriar, transferir para balão volumétrico de 1000 ml e completar o volume. Usar água fervida. Transferir para frasco plástico e conservá-lo bem fechado. A concentração desta solução é de aproximadamente 0,5 mol L<sup>-1</sup>.
- **k)** Solução de NaOH aproximadamente 0,025 mol L<sup>-1</sup>, livre de CO<sub>2</sub>: pipetar 25 ml da solução de NaOH 20g L<sup>-1</sup>, transferir para balão volumétrico de 500 ml e completar o volume com água previamente fervida.

# Determinar a equivalência em boro desta solução, através do seguinte procedimento:

Transferir 25 ml da solução padrão de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> para um béquer de 250 ml, adicionar 3,0 g de NaCl e 3-4 gotas de solução de vermelho de metila 1 g L<sup>-1</sup>.

Adicionar solução de HCl 0,5 mol L<sup>-1</sup>, gota a gota e com agitação, até obter a cor avermelhada do indicador, diluir a aproximadamente 150 ml com água e ferver por 2-3 minutos para eliminar CO<sub>2</sub>.

Deixar esfriar até a temperatura ambiente. Posicionar o béquer no agitador magnético e mergulhar o eletrodo previamente calibrado na solução. Ajustar o pH a exatamente 6,30 utilizando as soluções de NaOH 0,5M e 0,025 mol L<sup>-1</sup> ou soluções diluídas de HCl, se necessário.

Adicionar 20 g de D-manitol ou D-sorbitol cristalizado à solução do béquer, com agitação, até dissolver completamente e homogeneizar. O pH da solução deverá apresentar uma variação para um valor mais baixo. Titular com a solução de NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>, com agitação, até o pH retornar ao valor de 6,30 (este valor deve se manter estável durante, pelo menos, um minuto). Anotar o volume gasto (V<sub>1</sub>), em ml.

Desenvolver uma prova em branco, substituindo os 25 ml de solução padrão de  $H_3BO_3$  por água; anotar o volume gasto  $(V_2)$ .

A quantidade de boro equivalente a 1 ml da solução de NaOH (fator A) é:

$$A = \frac{4,369}{(V_1 - V_2)}$$

**onde:** A = quantidade de boro equivalente, em mg B por ml de NaOH,  $V_1$  = volume da solução padronizada de NaOH consumido na titulação do padrão,  $V_2$  = volume da solução padronizada de NaOH consumido na titulação da prova em branco.

#### Extração

- a) Pesar uma massa (G) da amostra que contenha até 4,5 mg de boro provável e transferir para um béquer de 250-300 ml.
- **b)** Adicionar 50 ml de água, 3 ml de HCl concentrado, ferver à ebulição e conservar quente por 5-10 minutos. Mantendo a solução quente, mas sem ferver, proceder ao seguinte tratamento:
  - Adicionar à solução de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> usando 1 ml desta solução para cada
     1,2 % de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> especificado na composição da amostra.
  - Acrescentar NaHCO<sub>3</sub> sólido, um pouco por vez, até a suspensão aproximar-se da neutralização, o que é reconhecido pela formação de um precipitado branco junto ao material insolúvel presente.
  - Juntar 3-4 gotas da solução de vermelho de metila e continuar a adição de NaHCO<sub>3</sub>, pouco por vez, até a suspensão adquirir a cor amarela ou alaranjada do indicador.
- c) Manter a solução quente, sem ferver, por 30 minutos, adicionando pequenas quantidades de NaHCO<sub>3</sub>, se necessário, para manter a mesma cor do indicador. Se a cor do indicador clarear pela presença de nitrato, adicionar mais indicador. Após a neutralização e o aquecimento, devem restar 40 -50 ml de solução.
- **d)** Filtrar através de papel de filtro de porosidade média, para um béquer de 250 mL. Lavar o béquer e o precipitado com 5 porções de 10 ml de água quente.

#### Determinação e cálculo

- a) Acidificar o filtrado do extrato com HCl (1+1), gota a gota, até obter a cor vermelha do indicador vermelho de metila e ferver por 2-3 minutos para eliminar CO<sub>2</sub>.
- **b)** Neutralizar a solução quente com solução de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>, reacidificar com solução de HCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> e acrescentar 0,3-0,5 ml em excesso. Diluir a

aproximadamente 150 ml, ferver novamente por 2-3 minutos para eliminar o CO<sub>2</sub> remanescente e esfriar à temperatura ambiente.

- c) Neutralizar grosseiramente com solução de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> e levar o béquer para o conjunto de titulação, mergulhando os eletrodos na solução e posicionando o agitador. Ligar o agitador e 66 ajustar o pH da solução a exatamente 6,30 pela adição de solução de NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup> ou HCl 0,02 mol L<sup>-1</sup>, conforme o caso (quando adequadamente ajustado, o pH deve ser invariável; flutuações são frequentemente devidas à incompleta remoção do CO<sub>2</sub>).
- d) Encher a bureta com solução padronizada de NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>. Adicionar 20 g de D-manitol ou D-sorbitol cristalizado à solução do béquer, com agitação, até dissolver completamente e homogeneizar. O pH da solução deverá apresentar uma variação para um valor mais baixo. Titular com a solução de NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>, com agitação, até o pH retornar ao valor de 6,30 (este valor deve permanecer estável durante, pelo menos, um minuto). Anotar o volume gasto (V<sub>1</sub>), em ml.
- e) Desenvolver uma prova em branco e anotar o volume de solução padronizada de NaOH 0,025 mol  $L^{-1}$  gasto  $(V_2)$ .
  - f) Calcular a porcentagem de boro na amostra pela expressão:

$$B_{(\%m/m)} = \frac{A(V_1 - V_2)}{10G}$$

**onde:** A = mg de boro equivalente a 1 ml de solução de NaOH 0,025 mol  $L^{-1}$ ,  $V_1 =$ volume da solução padronizada de NaOH gasto na titulação da amostra, em ml,  $V_2 =$ volume da solução padronizada de NaOH gasto na titulação da prova em branco, em ml, G =massa inicial da amostra, em gramas.

Nota: O boro (B) é um micronutriente presente na composição dos fertilizantes multinutrientes. Entretanto, em matérias-primas e misturas para serem incluídas na composição final dos produtos, pode se apresentar em teores mais elevados. Nestes casos ( $B \ge 2,5\%$ ), o procedimento de extração pode ser adequado:

**a)** Pesar uma massa (G) de 0,5 a 1 g da amostra, com precisão de 0,1 mg, transferir para béquer de 250 ml, adicionar 50 ml de água e 3 ml de HCl concentrado PA.

- **b)** Aquecer até o início da ebulição e manter quente por 10 minutos. Esfriar, transferir para balão volumétrico de 100 mL (ou outro balão de maior volume que permita a tomada de uma alíquota mais adequada para a determinação) e completar o volume com água. Agitar e deixar em repouso por 5 minutos. Filtrar em papel de filtro de porosidade média ou fina, se necessário.
- **c)** Tomar uma alíquota do extrato que contenha até 4,5 mg de boro provável e transferir para um béquer de 250-300 ml. Prosseguir como indicado em *Extração*, no item "b", a partir de "... Mantendo a solução quente, mas sem ferver, proceder ao seguinte tratamento..."
  - d) Proceder à determinação como indicado

#### Determinação e cálculo

$$B_{(\%m/m)} = \frac{A(V_1 - V_2)}{10G_S}$$

onde: A = mg de boro equivalente a 1 ml de solução de NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>,  $V_1 =$  volume da solução padronizada de NaOH gasto na titulação da amostra, em ml,  $V_2 =$  volume da solução padronizada de NaOH gasto na titulação da prova em branco, em ml, Gs = massa da amostra, em gramas, contida na alíquota do extrato tomada para a determinação.

#### 1.18 Cobre (Cu)

Fundamenta-se na extração, por digestão ácida, do cobre contido na amostra e a medida da sua concentração por espectrometria de absorção atômica (AA). Equipamento usados nesse procedimento é o Espectrômetro de Absorção Atômica, equipado com lâmpada para cobre.

#### Reagentes

- a) Ácido clorídrico concentrado, HCl PA.
- b) Solução de HCl (1+5) com água, aproximadamente 2 mol L<sup>-1</sup>.
- c) Solução de HCl (1+23) com água, aproximadamente 0,5 mol L<sup>-1</sup>.
- **d)** Solução padrão estoque de cobre com 1000 mg L<sup>-1</sup>: preparar a partir de solução padrão de cobre com 1,0000 g de Cu (ampola ou embalagem similar). Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1 L, acrescentar 40 ml de HCl

concentrado e completar o volume com água. Alternativamente, transferir 0,2000 g de cobre metálico puro (eletrolítico) para béquer de 250 ml, adicionar 2-3 gotas de HNO<sub>3</sub> e 5 ml de solução aquosa de HCl (1+1). Cobrir com vidro de relógio e ferver moderadamente até quase secar. Retomar com 50 ml de HCl (1+23), transferir para balão de 1 litro e completar o volume com a mesma solução ácida. Pode-se, também, adquirir soluções certificadas prontas para o uso de reconhecida qualidade ou utilizar outro padrão primário.

- e) Solução intermediária de cobre com 50 mg L<sup>-1</sup>: tomar 10 ml da solução com 1000 mg L<sup>-1</sup> para balão de 200 ml e completar o volume com ácido clorídrico (1+23).
- **f)** Soluções de leitura: transferir 2,0-5,0-10,0 e 15 ml da solução com 50 mg L<sup>-1</sup> para balões de 50 ml e completar o volume com solução de HCl (1+23). Estas soluções contêm 2-5-10 e 15 mg L<sup>-1</sup>. Preparar o branco com HCl (1+23).

#### Extração

Proceder à extração conforme descrito no método para a determinação do Cálcio por espectrometria de absorção atômica.

## Determinação e cálculo

- a) Transferir uma alíquota (A) do extrato que contenha, no máximo, 0,75 mg de cobre para balão de 50 ml e completar o volume com HCl (1+23). Deve-se tomar uma alíquota de modo a situar a concentração da solução final de leitura na faixa intermediária da curva de calibração. Se necessário, fazer diluição intermediária, também utilizando HCl (1+23), considerando-a nos cálculos finais.
- **b)** Colocar o aparelho nas condições exigidas para a determinação do cobre (lâmpada de Cu, comprimento de onda de 324,7 nm, fenda e chama adequadas, conforme manual do equipamento).
- c) Calibrar o aparelho com o branco e as soluções-padrão. Aspirar água entre as leituras e aguardar a estabilização de cada leitura antes de registrar o resultado.
- **d)** Proceder à leitura das soluções das amostras e da prova em branco, verificando a calibração a cada grupo de 8 a 12 leituras. Determinar sua concentração, em mg L<sup>-1</sup>, através da equação de regressão linear da curva de calibração ou informação direta do equipamento.
  - e) Calcular a porcentagem em massa de cobre pela expressão:

$$Cu_{(\%m/m)} = \frac{5C}{y}$$

**onde:** C = concentração de Cu na solução final de leitura, em mg L<sup>-1</sup>, y = massa da amostra, contida na alíquota A do extrato, em mg. Considerar diluições intermediárias se tiver ocorrido como fator de correção.

Considerar diluições intermediárias se tiver ocorrido.

#### Cálculo de y:

$$y = \frac{1000AG}{V_b D}$$

**onde:** G = massa inicial da amostra, em g, A = volume da alíquota tomada para a solução de leitura, em ml,  $V_b$  = volume do balão utilizado na etapa de extração, em ml, D = fator de diluição do extrato inicial, se tiver ocorrido.

#### 1.19 Ferro (Fe)

Fundamenta-se na extração, por digestão ácida, do ferro contido na amostra e a medida de sua concentração por Espectrometria de Absorção Atômica. O Equipamento necessário para esse processo é o Espectrômetro de Absorção Atômica, equipado com lâmpada para ferro.

#### Reagentes

- a) Ácido clorídrico concentrado, HCl PA
- **b)** Solução de HCl (1+5) com água, aproximadamente 2 mol L<sup>-1</sup>.
- c) Solução de HCl (1+23) com água, aproximadamente 0,5 mol L<sup>-1</sup>.
- d) Solução padrão estoque de Fe com 1000 mg L<sup>-1</sup>: preparar a partir de solução padrão de ferro com 1,0000 g de Fe (ampola ou embalagem similar), transferida quantitativamente para balão volumétrico de 1000 ml. Acrescentar 40 ml de HCl concentrado e completar o volume com água. Alternativamente, pode-se tomar 0,2500 g de ferro puro para béquer de 250 ml, adicionar 30 ml de HCl (1+1), cobrir com vidro de relógio e ferver até completa dissolução. Transferir para balão volumétrico de 250 ml e completar o volume com HCl (1+23). Pode-se, também, adquirir soluções certificadas prontas para o uso de reconhecida qualidade ou utilizar outro padrão primário.
- e) Solução intermediária de Fe com 50 mg L<sup>-1</sup>: transferir 10 ml da solução com 1000 mg L<sup>-1</sup> para balão de 200 ml. Completar o volume com HCl (1+23).

f) Soluções de leitura: transferir 2 - 5 - 10 e 15 ml da solução de Fe com 50 mg L<sup>-1</sup> para balões volumétricos de 50 ml. Completar o volume com HCl (1+23). Essas soluções contêm 2 - 5 - 10 e 15 mg L<sup>-1</sup>. Preparar o branco com HCl (1+23).

## Determinação e cálculo

- a) Transferir uma alíquota (A) do extrato que contenha, no máximo, 750 microgramas de ferro para balão de 50 ml e avolumar com HCl (1+23). Deve-se tomar uma alíquota de modo a situar a concentração da solução final de leitura na faixa intermediária da curva de calibração. Se necessário, fazer diluição intermediária utilizando HCl (1+23), considerando-a nos cálculos finais.
- **b)** Colocar o aparelho nas condições exigidas para a determinação do ferro (lâmpada de Fe, comprimento de onda de 248,3 nm, fenda e chama adequadas, conforme manual do equipamento).
- c) Calibrar o aparelho com o branco e as soluções-padrão. Aspirar água entre as leituras e aguardar a estabilização de cada leitura antes de registrar o resultado.
- **d)** Proceder à leitura das soluções das amostras e da prova em branco, verificando a calibração a 79 cada grupo de 8 a 12 leituras e determinar sua concentração em mg L<sup>-1</sup> através da equação de regressão linear da curva de calibração ou informação direta do equipamento.
  - e) Calcular a porcentagem de ferro pela expressão:

$$Fe_{(\%m/m)} = \frac{5C}{y}$$

C = concentração de Fe na solução final de leitura, em mg L<sup>-1</sup>.

 $\mathbf{y}$  = massa da amostra, contida na alíquota A do extrato, em mg. Considerar diluições intermediárias se tiver ocorrido.

#### Cálculo de y

$$y = \frac{1000AG}{V_h D}$$

**onde:** G = massa inicial da amostra, em g. A = volume da alíquota tomada para a solução de leitura, em mL,  $V_b$  = volume do balão utilizado na etapa de extração, em mL, D = fator de diluição do extrato inicial, se tiver ocorrido.

#### 1.20 CO total

O método baseia-se na oxidação, por via úmida, do carbono orgânico contido na amostra com bicromato de potássio em excesso e ácido sulfúrico concentrado, promovendo-se aquecimento externo. Segue-se a determinação do bicromato remanescente por titulação com solução de sulfato ferroso amoniacal. Aplica-se aos fertilizantes orgânicos. Para fertilizantes organominerais há uma etapa de tratamento preliminar descrita no item d apresentado à frente.

#### Reagentes e soluções

**Solução de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,20 M:** dissolver em água destilada 118,8624 g do sal PA (99% de pureza), padrão primário, secado a 110-120°C por 2 horas, e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 2 litros, completando o volume com água destilada.

Ácido sulfúrico concentrado, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> PA 95-98%.

Ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) PA 85,0%.

**Solução indicadora de difenilamina**( $C_{12}H_{11}N$ ), p.a. Preparo: Tomar 0,25 g de difenilamina, acrescentar 20 mL de água e solubilizar adicionando cuidadosamente 50 mL de ácido sulfúrico concentrado. Esfriar e conservar em frasco escuro.

**Solução de sulfato ferroso amoniacal** aproximadamente 0,5 M: pesar 198,0 g do sal (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O PA, transferir para béquer de 1000 ml e acrescentar, com cuidado, 150 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agitar, adicionar 250 ml de água destilada, agitar novamente e deixar esfriar. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 ml e completar o volume com água destilada, deixando esfriar antes de cada adição de água. Guardar em recipiente plástico opaco.

**Aferição:** a solução de Fe<sup>2+</sup> deve ter sua concentração aferida a cada dia de análise. Para tanto, tomar, em duplicata, uma alíquota de 10 ml da solução padrão de

K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,20 M para erlenmeyer de 250 ml. Acrescentar água até um volume de aproximadamente 100 ml e mais 10 ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Titular com a solução de sulfato ferroso amoniacal, empregando 0,5 a 1 ml da solução de difenilamina como indicador, até a viragem para a coloração verde. Sendo **V** o volume médio, em mililitros, do titulante gasto, a concentração (C) da solução de Fe<sup>2+</sup> em relação à solução de bicromato será:

$$C = 2.0/V$$

Obs.: C terá um valor próximo de 0,0833, visto tratar-se de uma reação de oxi-redução e não estarmos trabalhando com concentrações em normalidade.

Outro indicador que pode ser utilizado em substituição à solução de difenilamina:

Ferroin ou solução de ferroína: solubilizar 1,485 g de o-fenantrolina PA,  $C_{12}H_8N_2$ , mais 0,695 g de sulfato ferroso heptahidratado PA (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) em 100 ml de água destilada. Viragem: verde para violeta escuro.

#### Extração

- a) Pesar uma massa G da amostra, contendo entre 40 e 150 mg de carbono orgânico provável e transferir para erlenmeyer de 300 ml.
- **b)** Conduzir, em paralelo, 2x (duas) replicatas de uma prova em branco que devem passar por todo o procedimento, omitindo-se a presença da amostra.
- c) Adicionar, em seguida, 50 ml da solução 0,20 M de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, medidos com exatidão (pipeta volumétrica ou bureta) e, usando uma proveta, acrescentar vagarosamente, com cuidado, 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, movimentando suavemente o conteúdo do Erlenmeyer, que deve ser tampado com vidro de relógio e deixado em repouso até esfriar.
- **d)** Transferir o erlenmeyer tampado com o vidro de relógio para uma chapa aquecedora e ferver por 30 minutos, levando a temperatura a cerca de 140°C (evitar que ultrapasse 160°C).
- e) Terminado o tempo de reação, retirar o erlenmeyer da chapa e deixar esfriar, sempre coberto com o vidro de relógio.
- f) Lavar o vidro de relógio com água destilada, utilizando-se de uma pisseta, recolhendo a água no Erlenmeyer e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 250 ml. Completar o volume com água destilada, deixando esfriar antes de cada

adição de água. Homogeneizar, deixar decantar ou filtrar com papel de filtro de porosidade média, se necessário.

### Determinação

- a) Transferir uma alíquota de 50 ml do extrato da amostra e das provas em branco (duas) para erlenmeyer de 250 ml, fazer um volume de aproximadamente 100 mL com água destilada e acrescentar 10 ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.
- **b)** Titular com a solução de sulfato ferroso amoniacal, empregando 0,5 a 1 mL da solução de difenilamina como indicador, até a viragem para a coloração verde. Anotar os volumes gastos, em ml.
  - c) Calcular o teor de Carbono Orgânico (C.O.) pela expressão:

% C.O. = 
$$\frac{9C(Vb-Va)}{G}$$

onde: C = concentração da solução de sulfato ferroso amoniacal, Va = volume, em ml, da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto na amostra, Vb = volume médio, em ml, da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto nas replicatas da prova em branco, G = massa inicial da amostra, em grama

O cálculo de teor de carbono orgânico é efetuado com base na premissa de que cada mol de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> consumido reagiu com 1,5 mol de carbono orgânico (C.O).

**d)** Fertilizantes sólidos organominerais, especialmente aqueles com conteúdo de cloreto de potássio ou outros sais de cloro.

Obs: irá requerer a utilização de centrífuga com velocidade de 4500 rpm ou acima.

Para estes fertilizantes deverá ser feito um tratamento preliminar da amostra para eliminar cloretos e outros possíveis interferentes solúveis em água:

Pesar uma massa G da amostra contendo entre 40 e 150 mg de carbono orgânico (C.O) provável e transferir para Erlenmeyer.

Acrescentar um volume de água, em ml, de forma que a relação massa da amostra (g): volume de água (ml) seja de 1:100. Escolher a capacidade do Erlenmeyer de acordo com o volume de água a ser adicionado.

Tampar o Erlenmeyer e agitar por 20 minutos em agitador Wagner a 40-50 rpm.

Transferir, com auxílio de uma pisseta com água destilada, o conteúdo do Erlenmeyer para tubo de centrífuga de volume adequado, ajustar a velocidade da centrífuga para 3500 rpm (ou maior velocidade, se necessário) e promover a centrifugação por 15 minutos (ou um tempo maior, se necessário).

Concluída a centrifugação, eliminar a fase líquida e, com auxílio de uma pisseta com água destilada, transferir quantitativamente a fase sólida para erlenmeyer de 300 mL. Prosseguir a análise conforme descrito para os fertilizantes orgânicos.

## 1.21 Matéria Orgânica

# Para determinação da matéria orgânica usa-se o procedimento analítico utilizado descrito por Raij et al. (2001), consiste em:

- 1 Pesar 1 grama, transferindo para Erlenmayer de 250 ml.
- 2 Adicionar 10 ml da solução de dicromato de potássio a 0,167 mol L<sup>-1</sup> e, rapidamente, 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) PA.
  - 3 Agitar manualmente por um minuto e deixar esfriar durante 30 minutos.
- 4 Adicionar 200 ml de água destilada e filtrar através de papel de filtro de filtragem rápida, resistente ao ácido.
- 5 Acrescentar 10 ml de ácido fosfórico concentrado p.a. e 3 a 6 gotas da solução de difenilamina a  $10~{\rm g}~{\rm L}^{-1}$ .
- 6 Titular com solução de sulfato ferroso amoniacal a 0,4 mol L<sup>-1</sup>, até viragem de azul para verde.
  - 7 Realizar uma prova em branco completa, sem amostra.
- 8 O teor de matéria orgânica presente pode ser calculado de acordo com a equação na figura abaixo:

**Figura 21:** cálculo utilizado para descoberta do teor de matéria orgânica nas análises:

$$M.O. = \frac{(V_{branco} - V_{amotra}) \times 68,93}{V_{vola} \times V_{branco}}$$

Onde:

M.O.= teor de matéria orgânica, g dm<sup>-3</sup>.

 $V_{branco}$  = gasto na titulação, mL.

 $V_{amostra}$  = gasto na titulação, mL.

 $V_{\text{solo}} = \text{volume do solo, cm}^3$ .

68,93 = fator de correção.

#### 1.22 MICRONUTRIENTES - Co, Mn, Mo, Ni, Zn

A análise dos micronutrientes metálicos nos fertilizantes orgânicos e organominerais com determinação por absorção atômica, utilizando equipamentos e reagentes químicos já referenciados.

Método Espectrométrico por Absorção Atômica utilizados para os micronutrientes:

Reagentes e soluções

Solução estoque contendo 1000 ppm (m/v) de um dos nutrientes escolhidos para analisar: preparar a partir de solução padrão de zinco com 1,0000 g da amostra (ampola ou embalagem similar), transferida quantitativamente para balão volumétrico de 1000 ml. Acrescentar 40 ml de HCl concentrado e completar o volume com água destilada; ou transferir 0,2500 g da amostra (metálico), p.a., para béquer de 250 ml, adicionar 10 ml de solução aquosa de HCl (1+1), cobrir com vidro de relógio e aquecer até a completa solubilização. Em seguida, transferir para balão volumétrico de 250 ml, lavando o béquer com 5 porções de 10 ml de HCl 0,5 M e completar o volume com água destilada.

Solução contendo 50 ppm (m/v) de um dos nutrientes escolhidos para analisar: transferir 10 ml da solução com 1000 ppm (m/v) da amostra para balão volumétrico de 200 ml e completar o volume com solução de HCl 0,5 M. Homogeneizar.

**Soluções padrões da amostra:** transferir 0,0 - 0,5 -1,0 - 1,5 e 2,0 ml da solução de 50 ppm da amostra 63 para balões de 50 ml e completar o volume com solução de HCl 0,5 M. Essas soluções contêm, respectivamente, 0,0 (branco) - 0,5 - 1,0 - 1,5 e 2,0 ppm da amostra.

## 1.23 RELAÇÃO C/N

É calculada pela divisão dos resultados em porcentagem mássica obtidos para o carbono orgânico e o nitrogênio, ambos referidos à amostra em base seca. Aplica-se aos fertilizantes orgânicos mistos, compostos e vermicompostos.

# 1.24 Análise de oligoelementos usando EPA 6010 (Cádmo, Arsênio, Cromo)

**Visão geral:** EPA 6010 é uma orientação baseada em desempenho amplamente utilizada para análise de 31 oligoelementos em águas subterrâneas, solo, sedimentos e resíduos sólidos.

**Preparação da amostra**: Exceto para água subterrânea, as amostras devem ser digeridas com ácido usando métodos da EPA, como os métodos 3005, 3010, 3015, 3031, 3050, 3051 e 3052, antes da análise por ICP-OES.

Análise: como os resíduos e o solo geralmente estão altamente contaminados com vários poluentes, podem ocorrer sobreposições espectrais significativas ao usar o ICP-OES para análise de elementos. Essas sobreposições espectrais tornam os resultados dos testes menos precisos e confiáveis e, portanto, devem ser identificados para posterior remoção ou correção durante a análise de dados.

**Resultados:** O Método EPA 6010 possui requisitos rígidos de controle de qualidade. Os controles de qualidade devem ser executados imediatamente após a calibração do instrumento, durante a execução e após a execução para atender aos critérios do método e garantir resultados válidos e confiáveis.

# 2. Metodologia de Extração do DNA amostras de 6x meses (uso de kit de isolamento PowerSoil DNA Isolarions - Kit Catalog No. 12888-50 & 12888-100)

- **1.** Aos tubos PowerBead fornecidos, adicione 0,25 gramas de amostra de biocomposto + solo.
  - 2. Vortex suavemente para misturar.

- **3.** Verifique a Solução C1. Se a Solução C1 for precipitada, aqueça a solução a 60°C até dissolver antes de usar.
  - **4.** Adicione 60 μl da Solução C1 e inverta várias vezes ou agite brevemente.
- **5.** Prenda os tubos PowerBead horizontalmente usando o suporte de tubo adaptador MO BIO Vortex para o vórtice (MO BIO Catálogo nº 13000-V1-24) ou prenda os tubos horizontalmente em uma almofada de vórtice plana com fita adesiva. Vortex na velocidade máxima por 10 minutos.

**Obs:** Se você estiver usando o adaptador de vórtice de 24 lugares para mais de 12 preparações, aumente o tempo de vórtice em 5 a 10 minutos.

5. Certifique-se de que os tubos PowerBead giram livremente na centrífuga sem fricção. Centrifugue os tubos a 10.000 x g por 30 segundos em temperatura ambiente.

**Cuidado:** Certifique-se de não exceder 10.000 x g ou os tubos podem quebrar.

7. Transfira o sobrenadante para um tubo de coleta limpo de 2 ml (fornecido).

**NOTA:** Espere entre 400 a 500 µl de sobrenadante. O sobrenadante ainda pode conter algumas partículas de solo.

- **8.** Adicione 250 μl da Solução C2 e agite no vórtice por 5 segundos. Incubar a 4°C por 5 minutos.
  - **9.** Centrifugue os tubos em temperatura ambiente por 1 minuto a 10.000 x g.
- **10.** Evitando o pellet, transfira até, mas não mais que, 600 μl de sobrenadante para um tubo de coleta limpo de 2 ml (fornecido).
- 11. Adicione 200 μl da Solução C3 e agite brevemente. Incubar a 4°C por 5 minutos.
  - 12. Centrifugue os tubos em temperatura ambiente por 1 minuto a 10.000 x g.
- 13. Evitando o sedimento, transfira até, mas não mais que, 750 μl de sobrenadante para um tubo de coleta limpo de 2 ml (fornecido).
- 14. Agite para misturar a Solução C4 antes de usar. Adicione 1200 μl da SoluçãoC4 ao sobrenadante e agite no vórtex por 5 segundos.
- 15. Carregue aproximadamente 675 μl em um filtro giratório e centrifugue a 10.000 x g por 1 minuto em temperatura ambiente. Descarte o fluxo e adicione 675 μl adicionais de sobrenadante ao filtro giratório e centrifugue a 10.000 x g por 1 minuto em temperatura ambiente. Carregue o sobrenadante restante no filtro giratório e centrifugue a 10.000 x g por 1 minuto em temperatura ambiente.

**Nota:** É necessário um total de 3x (três) cargas para cada amostra processada.

- **16.** Adicione 500 μl da Solução C5 e centrifugue à temperatura ambiente por 30 segundos a 10.000 x g.
  - 17. Descarte o fluxo.
  - **18.** Centrifugue novamente à temperatura ambiente por 1 minuto a 10.000 x g.
- **19.** Coloque cuidadosamente o filtro giratório em um tubo de coleta limpo de 2 ml (fornecido). Evite espirrar qualquer solução C5 no filtro giratório.
- **20.** Adicione 100 μl da Solução C6 ao centro da membrana do filtro branco. Alternativamente, neste passo, pode ser utilizada água de qualidade para PCR livre de DNA estéril para a eluição da membrana de filtro giratório de sílica (MO BIO Catálogo nº 17000-10).
  - **21.** Centrifugue à temperatura ambiente por 30 segundos a 10.000 x g.
- **22.** Descarte o filtro giratório. O DNA no tubo agora está pronto para qualquer aplicação a jusante. Nenhuma outra etapa é necessária. Recomendamos armazenar o DNA congelado (-20° a -80°C). A solução C6 não contém EDTA. Para concentrar o DNA, consulte o Guia de dicas e solução de problemas.

Recomenda-se armazenar o DNA congelado (-20° a -80°C). A solução C6 não contém EDTA. Para concentrar o DNA, consulte o Guia de dicas e solução de problemas.