

CETESB	SOLOS – DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS – MÉTODO RESPIROMÉTRICO DE BARTHA Método de ensaio	L6.350 ABR/90
--------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

SUMARIO

Pág.

Introdução	
1 Objetivo	
2 Normas complementares	
3 Aparelhagem	
4 Execução do ensaio	
5 Resultados	
Anexo A – Caracterização do solo	
Anexo B – Determinação das faixas de taxas de aplicação do resíduo.	

INTRODUÇÃO

O comportamento da respiração do solo é considerado como um indicador da sua atividade microbiana, bem como do efeito de toxicidade e da biodegradação de compostos orgânicos adicionados ao solo. O comportamento da respiração pode ser avaliado através da medida do oxigênio consumido ou através da medida do gás carbônico produzido, durante a biodegradação dos compostos orgânicos.

A medida do gás carbônico produzido pode ser efetuada em sistemas de fluxo contínuo ou em sistemas fechados. Os sistemas de fluxo contínuo se caracterizam por câmaras de incubação, por onde é passado um fluxo de ar isento de CO₂, sendo o ar efluente passado através de solução alcalina para remover o CO₂ produzido pela respiração do solo. O respirômetro de Bartha é um sistema fechado, constituído de duas câmaras interligadas, onde ocorrem a biodegradação e a remoção do CO₂ produzido para quantificação, sendo utilizado para se estimar a respiração de um solo a que foi adicionado um resíduo.

O método respirométrico de Bartha é Simples e de baixo custo para se determinar a biodegradação de resíduos em solos, estando amplamente divulgado na literatura, o que indica a sua aceitação como método adequado para esse fim.

1 OBJETIVO

1.1 Esta Norma prescreve o método respirométrico de Bartha para determinação da taxa de biodegradação da matéria orgânica contida e, resíduos a serem tratados em solos.

1.2 Por meio deste método é possível:

- a) Classificar resíduos para tratamento no solo;
- b) Inferir as condições de manejo de sistema de tratamento no solo (landfarming), em escala piloto, tais como:
 - taxa de aplicação;
 - necessidade de correção do pH do solo;
 - condições ideais de umidade;
 - balanceamento de nutrientes;
 - práticas que promovam a mistura adequada do resíduo ao solo, permitindo a manutenção de condições aeróbias necessárias à degradação.

2 NORMAS COMPLEMENTARES

Na aplicação desta Norma é necessário consultar:

- NBR 5734 – Peneiras de ensaio 0 Especificação
- NBR 10004 – Resíduos sólidos – Classificação
- NBR 10007 – Amostragem de resíduos – Procedimento
- CETESB L5.227 – Bioensaio de toxicidade aguda com *Photobacterium phosphoreum* – Sistema Microtox – Método de ensaio
- CETESB L6.245 – Solos – Coleta e preparação de amostras – Procedimento.

3 APARELHAGEM

3.1 Aparelhagem e vidraria usuais de laboratório

3.2 Peneira ABNT 2,0 mm (ver NBR 5734).

3.3 Respirômetros de Bartha

O esquema do respirômetro encontra-se na Figura. São necessários quatro respirômetros para cada tratamento.

3.4 Seringas descartáveis, de 10 mL, com canhão Luer.

3.5 Sistema de fornecimento de ar comprimido, isento de água e óleo

4 .EXECUÇÃO DO ENSAIO

4.1 Reagentes e soluções

4.1.1 Água isenta de CO₂

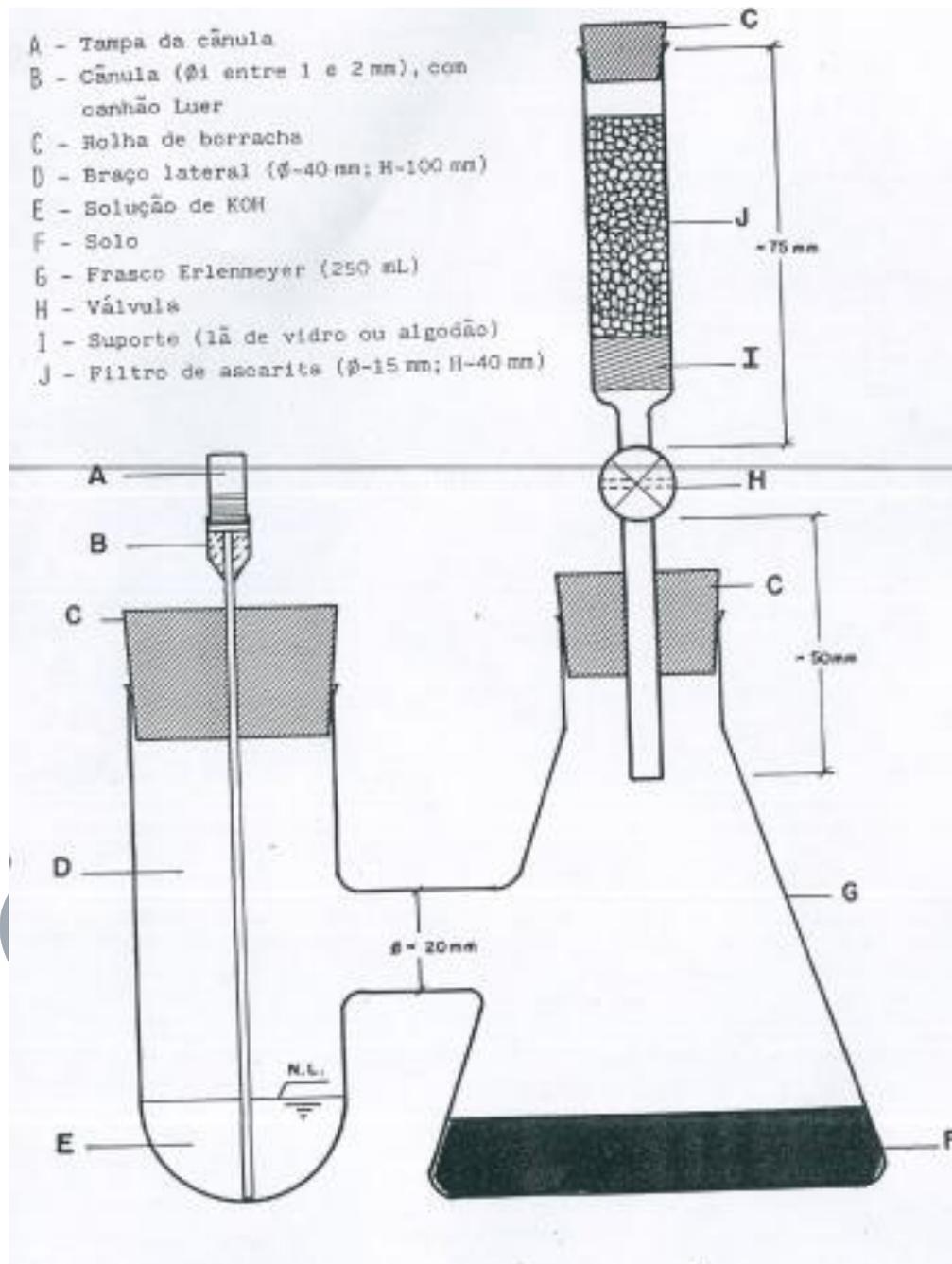


FIGURA – Vista em corte de um tespirômetro

Ferver água destilada durante 30 minutos, transferir para frasco com filtro de ascarita e deixar esfriar até a temperatura ambiente.

4.1.2 Solução de KOH 0,2 N

Dissolver 11,2 g KOH em 1000ml de água isenta de CO₂. Manter em frasco com filtro de ascarita. Padronizar contra 100 mL de solução 0,200 N de ftalato ácido de potássio com indicador vermelho de metila (2 gotas), antes de cada ensaio.

4.1.3 Solução de ftalato ácido de potássio 0,200 N

Pesar exatamente 40,860 g de ftalato ácido de potássio (C₆H₄COOK.COOH), seco em estufa a 110-120°C, por 30 minutos, e resfriar em dessecador. Dissolver em 500 mL de água destilada isenta de CO₂, em balão volumétrico, e completar para 1000 mL.

4.1.4 Solução indicadora de vermelho de metila

Dissolver 0,2 g de vermelho de metila em 60 mL de etanol p.a. e completar com água destilada para 100 mL.

4.1.5 Solução padrão de HCl 0,1 N

Transferir cerca de 8,5 mL de HCl concentração p.a. para um balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água destilada. Padronizar contra 100 mL de solução de carbonato de sódio 0,100 mL, usando vermelho de metila como indicador (2 gotas).

4.1.6 Solução de carbonato de sódio 0,100 N

Pesar exatamente 5,300 g de carbonato de sódio em pó, seco a 200° C por uma hora e resfriado em dessecador, e dissolver em 500 mL de água destilada isenta de CO₂ a 15° C. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água destilada isenta de CO₂.

4.1.7 Solução de BaCl₂ 1 N

Dissolver 12,2 g de BaCl₂.2H₂O em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.

4.1.8 Solução indicadora de fenolftaleína

Dissolver 0,2 g de fenolftaleína em 60 mL de etanol p.a. e completar com água destilada para 100 mL.

4.2 Procedimentos para solos

4.2.1 Amostragem e preparação

Os critérios par coleta e preparação das amostras de solo devem seguir as recomendações da CETESB L6.245.

4.2.2 Caracterização

Para caracterizar o solo devem ser feitas as seguintes determinações, cujos procedimentos estão descritos no Anexo A:

- a) densidade global;
- b) capacidade de campo e umidade;
- c) pH inicial;
- d) curva de neutralização.

4.3 Procedimentos para o resíduo

4.3.1 Riscos de manipulação

É necessário certificar-se da procedência e provável composição do resíduo, tendo em vista os riscos envolvidos em manipulação. É recomendável consultar a NBR 10 004.

4.3.2 Amostragem do resíduo

Deve ser realizada de acordo com a NBR 10 007.

4.3.3 Caracterização

Antes de iniciar o teste de biodegradação, é necessário determinar:

- a) Toxicidade aguda (CETESB L5.227);
- b) Resíduo total, fixo e volátil;
- c) Conteúdo de água;
- d) Conteúdo de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo;
- e) Conteúdo de óleos e graxas (para resíduos oleosos);
- f) Metais pesados (triagem e quantificação);
- g) pH.

4.4 Procedimentos para o ensaio

4.4.1 Preparação da mistura solo-resíduo

Para cada respirômetro, pesar (50 +/- 0,1) g de solo com unidade residual conhecida, determinada conforme A-3.7. Pesar a quantidade de resíduo (Mr) correspondente à taxa de aplicação selecionada a partir de ensaios de toxicidade aguda por sistema Microtox (ver Anexo B) ou equivalente. Misturar o solo e o resíduo, do modo a garantir homogeneidade. Como alternativa, pode ser preparada a mistura das massas totais de solo e resíduo necessária para todos os respirômetros submetidos. A mesma taxa de aplicação. Recomenda-se pesar um excesso de 10% a 20% para compensar perdas durante o manuseio.

4.4.2 Balanceamento de nutrientes

Com base no conteúdo de carbono do resíduo, deve-se adicionar sais de nitrogênio e fósforo, de modo a atingir as seguintes relações: C/N = 60 e C/P = 300. É fundamental a utilização de reagentes que não interfiram no pH do solo e nos equilíbrios de CO₂, bicarbonatos e carbonatos.

4.4.3 Ajuste da umidade do solo

Calcular, a partir da capacidade de campo (ver A-3.8), da umidade residual (ver A-3.7) e do conteúdo de água do resíduo (ver 4.3.3-c), a quantidade de água necessária para que cada respirômetro opere com umidade do solo entre 50% e 70% da capacidade de campo. As quantidades dos sais de nitrogênio e fósforo obtidas em 4.4.2 devem ser adicionadas a essa quantidade de água. Recomenda-se um excesso adequado desta solução.

4.4.4 Montagem dos respirômetros

4.4.4.1 Introdução da mistura solo-resíduo

Para cada respirômetro com mesma condição de teste, adicionar a quantidade calculada da solução de nutrientes preparada de acordo com 4.4.3. Em seguida, adicionar a quantidade de mistura solo-resíduo, preparada de acordo com 4.4.1, sobre a solução já presente no respirômetro, de modo a garantir uma distribuição homogênea da água no solo, por capilaridade. Instalar a parte superior do respirômetro, devidamente preenchida com ascarita, mantendo a válvula de ventilação fechada. Montar em triplicata.

4.4.4.2 Preparação do sistema de absorção de CO₂

Adicionar 10,0 mL de solução de KOH (ver 4.1.2) ao braço lateral e fechar com a respectiva rolha (ver Figura).

4.4.4.3 Respirômetro para controle

Preparar, para cada condição de teste, um conjunto de três respirômetros-controle, contendo as mesmas quantidades de nutrientes, água e solo, omitindo a adição de resíduo.

4.4.5 Medida de biodegradação

Através de medidas de CO₂ produzido (diferença entre a produção com resíduo e a do controle correspondente) durante o período de incubação, é possível estimar tempos de indução para início da biodegradação, velocidade máxima e fração de resíduo que foi degradada.

4.4.5.1 Incubação

Os respirômetros devem ser incubados a $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$, submetidos a fotoperíodo de 12 horas, até a parada total de produção de CO_2 em três de terminações consecutivas ou, pelo menos, por 15 dias. Condições diferentes das descritas devem ser relatadas juntamente com os resultados.

4.4.5.2 Determinação da quantidade de CO_2 produzido

4.4.5.2.1 Preparar, para cada amostra de teste, 2 frascos Erlenmeyer de 100 mL, adicionando a cada um deles:

- a) 2 gotas de fenolftaleína;
- b) 1 mL de uma solução de BaCl_2 1 N.

4.4.5.2.2 Remover a rolha de borracha do filtro de ascarita do respirômetro-teste e abrir a válvula. Remover a tampa da cânula do braço lateral.

4.4.5.2.3 Usando uma seringa de 10 mL, transferir a solução de KOH do braço lateral do respirômetro-teste para um frasco Erlenmeyer preparado conforme 4.10.1. Encher a seringa com 10 mL de água isenta de CO_2 injetar no braço lateral do respirômetro para lavagem do mesmo e, com a seringa, transferir essa quantidade de água para o Erlenmeyer. Repetir a lavagem por mais duas vezes e titular imediatamente.

4.4.5.2.4 Usando outra seringa de 10 mL, adicionar exatamente 10 mL de uma solução de KOH 0,2 N ao braço lateral do respirômetro-teste. Recolocar a tampa da cânula no braço lateral, fechar a válvula e recolocar a rolha de borracha do filtro de ascarina. Retornar o respirômetro para incubação conforme 4.4.5.1 até a determinação seguinte.

4.4.5.2.5 Titular o conteúdo do Erlenmeyer com HCl 0,1 N, fator conhecido, introduzindo o ácido rapidamente no início e mais lentamente quando próximo do ponto de viragem da fenolftaleína. Anotar a quantidade de ácido necessária.

4.4.5.2.6 Repetir as operações descritas em 4.4.5.2.2 a 4.4.5.2.5 para o respirômetro-controle correspondente.

4.4.5.2.7 Em um Erlenmeyer de 100 mL, preparar uma prova em branco contendo:

- a) 10mL de solução de KOH 0,2 N, adicionados com seringas de 10 mL;
- b) 2 gotas de fenolftaleína;
- c) 1 mL de solução de BaCl_2 1N;

d) 30 mL de água isenta de CO₂.

Titular conforme 4.4.5.2.5.

5 RESULTADOS

5.1 Quantidade de CO₂ produzida no respirômetro-teste

Para cada respirômetro a produção de gás carbônico entre a determinação anterior e a presente é calculada por:

$$\mu\text{mol CO}_2_{\text{solo (resíduo)}} = (A-B) \times 50 \times f_{\text{HCl}}$$

Onde:

A = volume de HCl 0,1N gasto para titular o branco, em mL

B = volume de HCl 0,1 N gasto para titular o tratamento, em mL

50 = fator para transformar equivalente em umol de CO₂

f_{HCl} = fato de HCl 0,1 N (ver 4.1.5)

5.2 Quantidade de CO₂ produzida no respirômetro-controle

Cálculo idêntico ao 5.1 deve ser efetuado para o controle:

$$\mu\text{mol CO}_2_{\text{solo (resíduo)}} = (A-B) \times 50 \times f_{\text{HCl}}$$

5.3 Produção de CO₂ devido à biodegradação

Para determinar a quantidade de gás carbônico devida à biodegradação (CO₂), subtrair a quantidade de CO₂ produzida no respirômetro-controle (ver 4.5.2) da quantidade obtida no respirômetro-teste (ver 4.5.1). Construir uma tabela e um gráfico, que forneçam a quantidade de CO₂ acumulado produzida por biodegradação em função do tempo de incubação.

5.4 Cálculo da quantidade de carbono biodegradado

Admitindo que 50% do carbono biodegradado se transformam em CO₂ e que os 50% remanescentes se incorporam ao solo sob a forma de húmus e biomassa, calcular o valor do carbono biodegradado pela fórmula:

$$C_b (\mu\text{mol C}) = 2 \times \text{CO}_2_b (\mu\text{mol CO}_2)$$

5.5 Eficiência de biodegradação (EB)

Calcular a eficiência de biodegradação da seguinte forma:

$$\text{EB \%} = \frac{C_b (\mu\text{mol C})}{C_1 (\mu\text{mol C})} \times 100$$

Onde:

C_i ($\mu\text{mol C}$) = quantidade de carbono aplicada por 50 g de solo, assim calculada:

$$C_i = \frac{M_R \times \text{COT}_R}{12}$$

M_R = massa de resíduo por 50 g de solo, em g

COT_R = carbono orgânico total do resíduo, em $\mu\text{g/g}$

12 = fator de conversão, em $\mu\text{g}/\mu\text{mol}$

5.5 Determinação da taxa de aplicação no tratamento

Considerando que resíduos que apresentam eficiência de biodegradação acima de 30% são passíveis de ser tratados no solo, as taxas de aplicação avaliadas através de teste de respirometria que apresentarem uma eficiência de biodegradação acima de 30% poderão ser adotadas em escala piloto para um futuro sistema de tratamento de resíduos no solo.

/ Anexo A

ANEXO A – CARACTERIZAÇÃO DO SOLOA-1 Densidade global

Esta determinação é realizada na amostra de solo indeformada. Introduzir um anel volumétrico de borda cortante com capacidade de 50 mL, previamente aferido (V_1 , em cm^3) e tarado (m_1 em g), num horizonte ou camada de solo que se deseja, com cuidado para não compactar o solo. Retirar o anel, aparando o excesso de solo das duas extremidades com auxílio de uma espátula. Colocar na respectiva caixa de alumínio, fechando bem com fita adesiva, e transportar o conjunto para o laboratório. Secar o anel em estufa, a 105°C por 24 horas, e pesar (m_2 , em g). A densidade global é calculada por:

$$\rho_G = \frac{m_2 - m_1}{V_1}$$

Onde:

ρ_G = densidade global, em g/cm^3

m_1 = massa do anel, em g

m_2 = massa do anel com a amostra seca, em g

V_1 = volume do anel, em cm^3

A-2 Preparação da amostra

A amostra deve ser espalhada sobre uma superfície plana, isenta de contaminações, e deixada secar a temperatura ambiente. Durante o período de secagem, eventuais torrões devem ser desagregados. Após a secagem, peneirar a amostra, utilizando malha ABNT 2,0 mm.

A-3 Determinação da densidade aparente, umidade residual e capacidade de campo

A-3.1 Tomar um anel volumétrico de 50 mL, previamente aferido (V_2).

Recortar papel de filtro (Whatman 40 ou similar), com tamanho adequada do para ser fixado por colagem ao fundo do anel. Sugere-se a utilização de adesivo epóxi fluido de polimerização rápida.

A-3.2 Após a polimerização, imergir o conjunto na caixa respectiva com água destilada suficiente para umedecer e saturar o papel de filtro. Retirar o conjunto, aguardar a drenagem do excesso de água e pesar (m_3). Secar a 105°C até peso constante (m_4).

A-3.3 Preencher o conjunto com amostra preparada conforme descrito em A-2, compactando com aproximadamente 10 batidas, a uma distância de cerca de 3 cm. Repetir o procedimento até completar o anel. Aparar o excesso de solo com o auxílio da espátula e pesar (m_5).

A-3.4 Secar a 150°C por 24 horas. Esfriar em dessecador e pesar (m_6).

A-3.5 Imergir o conjunto contendo a amostra seca na caixa respectiva com água destilada até cerca da metade da altura do anel. Quando a amostra estiver saturada (umidade visível), colocar em dessecador até drenagem completa. Pesquisar a unidade completa em condições de saturação (m_7).

A-3.6 A densidade aparente é calculada por:

$$\rho_A = \frac{m_6 - m_4}{V_2}$$

Onde:

ρ_A = densidade aparente, em g/cm³

m = massa, em g

V_2 = volume do anel, em cm³

A-3.7 A umidade residual é calculada por:

$$U_R = \frac{m_5 - m_6}{m_6 - m_4} \times 100$$

Onde:

U_R = umidade residual, em g H₂O/100 g de solo seco

m = massa, em g

A-3.8 A capacidade de campo é calculada por:

$$CC = \frac{(m_7 - m_6) - (m_3 - m_4)}{m_6 - m_4} \times 100$$

Onde:

CC = capacidade de campo, em g H₂O/100 g solo seco

A-3.9 Estas determinações devem ser realizadas em triplicata.

A-4 Determinação do pH

Pesar (10 +/- 0,1) g da amostra em um béquer de 50 mL. Com uma proveta, adicionar 25 mL de água destilada e desionizada, agitando com bastão por cerca de 15 minutos. Deixar em repouso por 1 hora. A medida do pH é feita mantendo-

se o eletrodo de vidro, ou a parte correspondente de um eletrodo combinado, em contacto com o sedimento; o eletrodo de referência, ou sua parte correspondente em um eletrodo combinado, deve ficar no líquido sobrenadante. Não agitar a amostra.

A-5 Curva de neutralização

Pesar (10 +/- 0,1) g da amostra para cada ponto da curva de neutralização. Adicionar tentativamente as seguintes massas de carbonato de cálcio (CaCO_3), com precisão de miligrama: 0 (controle); 50; 100; 150; 300; 500 mg. Misturar bem, cobrir para evitar ressecamento das amostras e deixar em repouso por 1 semana e medir o pH. Considera-se como valor de neutralização (VN) a menor massa de carbonato de cálcio, em miligramas, suficiente para elevar o pH de 10 g do solo a aproximadamente 7.

_____ / Anexo B

CANCELADA

ANEXO B - DETERMINAÇÃO DAS FAIXAS DE TAXAS DE APLICAÇÃO DO RESÍDUO

Considerando como 25% o limite máximo de carbono a ser aplicado no solo e levando em consideração o teor de carbono do resíduo, sugere-se selecionar, no mínimo, quatro taxas de aplicação para execução do teste de toxicidade aguda, por exemplo o Microtox.

B-1 Preparação da fração solúvel em água (FSA)

Preparar quantidades adequadas das misturas solo-resíduo selecionadas e deixá-las em repouso durante (22 +/- 2) h, à temperatura ambiente. Para cada taxa de aplicação, pesar (25 +/- 0,1) g da mistura, em frasco de 250 mL com tampa rosca, e adicionar 100 mL de água destilada e desionizada, em triplicata. Manter o frasco sob agitação por (22 +/- 2) h, de forma a não haver separação das fases. Deixar em repouso por 30 minutos, pipetar o sobrenadante para tubos de centrifuga e centrifugar por 10 minutos a 2 500 min⁻¹, à temperatura de (22 +/- 2) °C. Filtrar o líquido em membrana de 0,45 µm. Executar o teste de Microtox no filtrado, no prazo máximo de 24 horas.

B-2 Determinação da faixa

Com base nos valores de EC50, calcular os valores de unidades tóxicas (UT), segundo:

$$UT = \frac{400}{EC50}$$

Preparar um gráfico di-log UT= f (taxa de aplicação). Ajustar uma reta aos pontos. A taxa mínima de aplicação corresponderá ao ponto de interseção de UT= 20 com a reta. A taxa máxima é definida como duas vezes a taxa mínima.