BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Avaliação das características do *fango* de Araxá-MG
com finalidade de uso cosmético**

Fernanda Fialho de Oliveira

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

**Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco**

São Paulo
2008

19285

DEDALUS - Acervo - CQ

30100014835

12

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

O48a	Oliveira, Fernanda Fialho de Avaliação das características do fango de Araxá-MG com finalidade de uso cosmético / Fernanda Fialho de Oliveira. -- São Paulo, 2008. 169p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. Orientador: Velasco, Maria Valéria Robles 1. Lama negra : Composição química : Cosméticos 2. Argila : Geologia econômica I. T. II. Velasco, Maria Valéria Robles, orientador.
	668.55 CDD

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Fernanda Fialho de Oliveira

**Avaliação das características do *fango* de Araxá-MG com
finalidade de uso cosmético**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco
Orientadora /presidente

Profa. Dra. Elisabete Pereira dos Santos
1º. examinador

Profa. Dra. Patrícia Santos Lopes
2º. examinador

São Paulo, 17 de setembro de 2008.

Dedicatória

Aos meus pais amados, que me incentivaram todos os dias, com muito amor, paz, tranquilidade e inspiração. Meu pai, um exemplo de disciplina, minha mãe, um exemplo de persistência. Obrigada. Amo muito vocês.

À minha irmã e amiga Renatinha, que é um exemplo de dedicação aos estudos para mim. Sua inteligência é um raio de luz para a ciência. Te amo e admiro muito Tata.

Aos funcionários da Farmacêutica, que me apoiaram em todos os momentos.

À minha querida amiga e irmã Lina, que teve muito carinho e paciência e não me abandonou nas horas mais difíceis.

Vocês foram e sempre serão a minha fonte de inspiração.
Sem vocês, jamais teria concluído esta etapa!

Agradecimento Especial

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco.

Vá, obrigada pela oportunidade, pelos ensinamentos transferidos ao longo desta etapa com tanto carinho e dedicação.

Obrigada por ter me dado apoio e não ter desistido de mim ao longo do percurso. Nenhuma estrada é longa demais, quando temos um guia para orientar. Obrigada

Agradecimentos

À Tatiana Balogh, que me ajudou muito na etapa final. Tati, você foi peça fundamental. Obrigada.

À Denise Miglioli, pelo carinho, dedicação, compreensão.

Aos amigos Sueli, Rony e Gabi Schwartz, pelo conforto e alegria. Vocês foram peça fundamental na reta final deste projeto. Obrigada.

Aos meus amigos do Colégio Rio Branco: Lucas, Renata Che e Silly, que de alguma forma me incentivaram na conquista deste trabalho.

Aos colegas de laboratório de Farmacotécnica: Rafael, André, Vivian e Tércio.

À Claudinéia e Carla, pelo carinho e colaboração.

Ao Prof. Dr. Gianinni, pelos ensinamentos e colaboração fundamental para este trabalho.

À empresa Farmacêutica que me apoiou financeiramente para conclusão deste trabalho.

À Prof.^a Dr.^a Elke Jurandir (ESALQ), que deu um direcionamento certo a este trabalho.

A todos os funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao André Baby, pelos conselhos, ensinamentos e orientação.

FIALHO, F. **Avaliação das características do *fango* de Araxá-MG com finalidade de uso cosmético.** São Paulo. 2008. ____p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

RESUMO

O tratamento cosmético facial e corporal que emprega o *Fango* vem sendo muito utilizado em clínicas de estética, com o intuito de melhorar a aparência da pele. A literatura científica carece de informações sobre alguns aspectos desta matéria-prima, como: as condições adequadas para sua coleta, preservando suas características químicas e microbiológicas; as especificações de qualidade da matéria-prima (física, química, microbiológica e toxicológica); e as metodologias analíticas de avaliação. A qualificação do *Fango* é primordial para o mesmo ser utilizado como matéria-prima de uso cosmético “tal qual” na pele ou veiculado em formulações cosméticas, a fim de alcançar a eficácia cosmética e garantir sua segurança de uso. Este trabalho visou a padronização do método de coleta do *Fango* na fonte e a das seguintes análises: física, físico-química, microbiológica, parasitológica, toxicológica do *Fango* provindo de Araxá-MG *in natura* e da lama negra (processada), com intuito de assegurar seu uso qualificado como matéria-prima em formulações cosméticas, uma vez que a literatura científica carece de estudos com este tipo de material. Os resultados obtidos quanto à segurança de uso foram satisfatórios, não ocorrendo a presença de microrganismos patogênicos tais como: *Escherichia coli*, coliformes fecais e totais, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (antes e depois da maturação), larva *migrans* e metais pesados. Os demais ensaios realizados para a caracterização do *Fango* como matéria-prima justificam sua aplicação em produtos cosméticos, como por exemplo, a presença do enxofre com potencial uso em formulações antissépticas e a argila tipo “caulinita” em preparações para diminuir a oleosidade da pele.

Palavras chaves: *fango*, turfa, *fango*-análise microbiológica, *fango*-análise físico-química, *fango*-análise parasitológica e *fango*-análise de metais.

FIALHO, F. **Evaluation the characteristics of “*Fango*” from Araxá-MG with cosmetic purposes.** São Paulo. 2008. ____p. Dissertação (Mestrado) – Dissertation (Máster) School os Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo.

ABSTRACT

The facial and body cosmetic treatments applying the “*Fango*” can be seen nowadays on esthetic clinics’ catalogues. The scientific literature up nowadays does not have sufficient informations concerning this product, the correct procedures to collect it from the soil preserving its chemical and microbiological characteristics; the specifications on its physical, chemical, microbiological e toxicological qualities and the analytical methodologies involving on the it evaluation. The *Fango*’s qualification is very important because it can be used alone (raw material) or incorporated in cosmetic formulations, in order to evaluate the safety and efficacy of final product. This is the only way it may be applied on cosmetics formulations designed to be applied on human skin. The aim of this research is to standard the collect conditions in thermal springs and standard such analysis: physical aspects, physic-chemical, microbiology, parasitological and toxicological of Thermal mud and *Fango* from Araxá-MG. The results obtained of this study showed that the *Fango* from Araxá-MG is safe to be applied in cosmetic formulations or direct on the human skin. The pathogenic microorganism such as: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida Albicans* were absent on the samples, and the same to *Larva migrans* and heavy metals. The physic-chemical analysis of *Fango* from Araxá-MG demonstrated its application in cosmetic products, as its capacity to improvement the skin’s conditions, e.g. the presence of sulphur with antiseptic proprieties and organic compounds in order to use on the oily skin.

Keywords: *Fango*, peat, *fango* microbiology-analysis, *fango*-physico-chemical analysis, *fango*- parasitology analysis and *fango*-heavy metals analysis.

FOTOS ILUSTRATIVAS HOTEL TROPICAL ARAXÁ - *FANGO*

1. Fotografia externa no hotel onde o *fango* é maturado

2. Fotografia interna no hotel onde ocorre os processos de filtração e esterilização do *fango*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	página
Figura 1	Classificação das partículas do solo. 25
Figura 2	Adsorção de cátions pelos colódios húmicos 29
Figura 3	Foto do <i>fango</i> em temperatura ambiente ao ar livre 43
Figura 4	Fotografia do equipamento utilizado para esterilização do <i>fango</i> 44
Figura 5	Passos para obtenção do <i>Fango</i> 46
Figura 6	Mapa de Araxá 48
Figura 7	Fotografia - Fonte Andrade Júnior 49
Figura 8	Esquema do funcionamento da pipeta de Andreasen 62
Figura 9	Fotografia do tamiz usado na análise granulométrica 64
Figura 10	Fotografia do agitador de tamises e coluna de tamisação 65
Figura 11	Esquema do plaqueamento em gotas 74
Figura 12	Esquema do Respirômetro. 79
Figura 13	Fotografia Larva <i>migrans cutânea</i> . 84
Figura 14	Fotografia do Respirômetro de Bartha 111
Figura 15	Fotografia de <i>Ancylostoma braziliense</i> (Larva <i>Migrans Cutânea</i>). 119
Figura 16	Análise granulométrica das amostras <i>Turfa pura</i> , <i>Lama sulfurosa</i> e <i>Fango maturado</i> . 122
Figura 17	Gráfico comparativo do teor da matéria orgânica das amostras <i>Turfa pura</i> , <i>Lama sulfurosa</i> , <i>Fango em maturação</i> e <i>Fango maturado</i> 128
Figura 18	Gráfico da quantidade inicial dos elementos fósforo, potássio, magnésio e enxofre antes do processo de maturação (<i>Turfa pura</i> ; <i>lama sulfurosa</i>), durante (<i>Fango</i> em maturação) e <i>Fango</i> maturado. 130
Figura 19	Gráfico da quantidade inicial do elemento cálcio antes do processo de maturação (<i>Turfa pura</i> ; <i>lama sulfurosa</i>), durante (<i>Fango</i> em maturação) e <i>Fango</i> maturado. 130

Figura 20	Gráfico da quantidade inicial dos elementos cobre, boro e zinco antes do processo de maturação (<i>Turfa pura; lama sulfurosa</i>), durante (<i>Fango em maturação</i>) e <i>Fango</i> maturado	131
Figura 21	Gráfico da quantidade inicial do elemento manganês antes do processo de maturação (<i>Turfa pura; lama sulfurosa</i>), durante (<i>Fango em maturação</i>) e <i>Fango</i> maturado	131
Figura 22	Gráfico da quantidade inicial dos elementos ferro e sódio antes do processo de maturação (<i>Turfa pura; lama sulfurosa</i>), durante (<i>Fango em maturação</i>) e <i>Fango</i> maturado	132
Figura 23	Contagem do número mais provável de microrganismos por grama de solo na <i>Turfa pura; Lama sulfurosa</i> e <i>Fango em maturação</i>	136

LISTA DE QUADROS

		página
Quadro 1	Descrição das Quatro classes de tamanhos principais de partículas inorgânicas e suas propriedades gerais	24
Quadro 2	Principais componentes dos tecidos vegetais e produtos de sua hidrólise no solo	34
Quadro 3	Relação entre medida do diâmetro (mm) e a escala ϕ	60
Quadro 4	Exemplo de contagem viável	67
Quadro 5	Número mais provável (NMP) e limites de confiança 95% em três diluições diferentes em triplicata.	71
Quadro 6	Índice do número mais provável e limites de confiança de 95% em três diluições diferentes em quintuplicata	72
Quadro 7	Efeitos tóxicos da exposição aos metais	81
Quadro 8	Condições de uso do forno de microondas para a digestão de amostras de solo pelo método EPA-3051	115
Quadro 9	Comprimentos de onda sugeridos para a determinação de alguns elementos por ICP-AES, usando os métodos da US-EPA	117
Quadro 10	Elementos orgânicos como cofatores de enzimas	133
Quadro 11	Composição do Fator de Hidratação Natural (NMF)	133

LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 1	Tabela de Mc Crady – Número mais provável de microrganismos para 5 repetições. 75
Tabela 2	Número Mais Provável para uso com três diluições decimais (quadruplicata), probabilidade de ocorrência e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança de 95% 104
Tabela 3	Número Mais Provável para uso com três diluições decimais (triplicata), probabilidades de ocorrência e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança IC de 95% 109
Tabela 4	Concentração das soluções-padrão de referência secundário, utilizadas para a calibração do espectrômetro de emissão atômica por plasma (ICP-AES) isoladamente e incorporada nas amostras de solo. 116
Tabela 5	Crêterios de inclusão quanto a cor, odor e aspecto físico das amostras de Turfa Pura, Lama Sufurosa, <i>Fango</i> em maturação e <i>Fango</i> maturado de acordo com as especificações das Termas em Araxá-MG 118
Tabela 6	Análise granulométrica da <i>Turfa Pura</i> pelo método da tamisação e pipetagem. 121
Tabela 7	Análise granulométrica da <i>Lama Sulfurosa</i> pelo método de tamisação e pipetagem. 121
Tabela 8	Análise granulométrica do <i>Fango</i> Maturado pelo método de tamisação e pipetagem 122
Tabela 9	Resultado da análise físico-química e do material orgânico da <i>Turfa pura</i> . 124
Tabela 10	Resultado da análise físico-química e do material orgânico da <i>Lama sulfurosa</i> Fonte Andrade Júnior. 125
Tabela 11	Resultado da análise físico-química e do material orgânico <i>Fango em maturação</i> . 126
Tabela 12	Resultado da análise físico-química e do material orgânico do <i>Fango maturado</i> . 127
Tabela 13	Contagem do número mais provável de microrganismos por grama de solo na <i>Turfa pura</i> ; <i>Lama sulfurosa</i> ; <i>Fango em maturação</i> e <i>Fango maturado</i> . 135
Tabela 14	Análise respirométrica das amostras <i>Turfa pura</i> ; <i>Lama sulfurosa</i> ; <i>Fango em maturação</i> e <i>Fango maturado</i> , coletadas na estância hidrográfica do barreiro em Araxá-MG. 141
Tabela 15	Análise de metais do <i>Fango em maturação e maturado</i> . 144
Tabela 16	Características organolépticas das amostras 146

SUMÁRIO

	página
1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	21
3. REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1 Solos minerais (inorgânicos)	24
3.2 Solo orgânico	26
3.3 Propriedades físicas do solo	26
3.4 Propriedades químicas do solo	28
3.4.1 Colóides no solo	28
3.4.2 Colóides orgânicos – humo	29
3.5 Solos alcalinos	30
3.6 Matéria orgânica no solo	31
3.6.1 Propriedades	31
3.6.2 Fontes	31
3.6.3 Decomposição e componentes relacionados	32
3.6.4 Características do humo	35
3.6.5 Degradação	37
3.7 Spas	37
3.7.1 Histórico das terapias	37
3.7.2 Uso de argilominerais associados às águas	39
3.7.3 Geoterapia	39
3.7.4 Cataplasma	40
3.7.5 Banhos de lama	40
3.8 Fango (Pelóide)	42
3.8.1 Processo de maturação	42
3.9 Termas de Araxá	46
3.9.1 Histórico	46
3.9.2 Localização	48
3.9.3 Aspectos da Estância hidrográfica de Araxá	49
3.9.4 Aspectos geoambientais	50
3.9.5 Geomorfologia	51

3.9.6	Hidroclimatologia	52
3.9.7	Uso e ocupação do solo	53
3.9.8	Domínios litológicos do Complexo Carbonatítico de Araxá	54
3.10	Determinação da composição do <i>Fango</i>	57
3.11	Coleta do <i>Fango</i> em Araxá	57
3.12	Análise granulométrica	59
3.12.1	Aplicação das análises granulométricas	60
3.12.2	Tipos de análise granulométrica	62
3.13	Análise microbiológica	66
3.13.1	Contagem e microrganismos viáveis	67
3.13.2	Pesquisa de microrganismos no <i>fango</i>	73
3.14	Análise Físico-química	80
3.14.1	Análise de pH e micronutrientes	80
3.15	Análise de metais	81
3.16	Análises organolépticas do <i>Fango</i>	83
3.17	Análise Parasitológica	84
4.	MATERIAL E MÉTODOS	85
4.1	Material	86
4.1.1	Matérias primas	86
4.1.2	Reagentes (Grau de pureza analítico) e Meios de cultura	86
4.1.3	Equipamentos	87
4.2	Métodos	89
4.2.1	Coleta, armazenamento e transporte das amostras em Araxá-MG	89
4.2.2	Análise granulométrica	90
4.2.2.1	Preparo da amostra	90
4.2.2.2	Análise granulométrica de sedimentos pelo método de tamisação	93
4.2.2.3	Teor de matéria orgânica na turfa e características físico-químicas das amostras de Araxá-MG	96

4.2.3	Análise microbiológica	99
4.2.3.1	Determinação do número mais provável de microrganismos	99
4.2.3.2	Pesquisa de microrganismos patogênicos	100
4.2.3.3	Pesquisa de bactérias amonificadoras	102
4.2.3.4	Pesquisa de bactérias celulolíticas	107
4.2.3.5	Pesquisa de bactérias diazotróficas	108
4.2.3.6	Análise respirométrica	111
4.2.4	Análise físico-química	113
4.2.4.1	Análise de pH e micronutrientes	113
4.2.5	Análise de metais	114
4.2.6	Características organolépticas	118
4.2.7	Análise parasitológica	119
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
5.1.	Análise granulométrica	121
5.2	Análise físico-química e micronutrientes	124
5.3	Análise Microbiológica	135
5.3.1	Contagem de microrganismos totais	135
5.3.2	Pesquisa de microrganismos patogênico no <i>Fango</i> maturado	140
5.3.3	Análise respirométrica	141
5.4	Análise parasitológica	143
5.5	Análise de metais	144
5.6	Características organolépticas	146
5.7	Especificações do produto final da maturação <i>Fango</i>	147
6.	CONCLUSÕES	148
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	150

1. INTRODUÇÃO

Com intuito de aumentar o potencial terapêutico e cosmético das águas termais, foram desenvolvidos diversos processos de adição de argilas e solos orgânicos às referidas águas nos *Spas*. Um dos produtos deste processo é o *Fango* ou pelóide (CARRETERO, 2002).

A obtenção do *Fango* envolve a adição de *Turfa*, solo proveniente da decomposição de matéria orgânica por microrganismos e de lama negra natural, à água proveniente do mar, lagos, fontes termais ou minerais (VENIALLE *et al*, 2004; CARRETERO, 2002), acondicionando-se o referido material por seis meses em tanques de alvenaria à temperatura ambiente. Após esse período, o *Fango* é filtrado, pasteurizado e está adequado para o uso (CARRETERO, 2002).

A composição geoquímica da água pode ser diferente, envolvendo os seguintes componentes: enxofre (denominada sulfurosa), sulfato de cálcio, sulfato de cálcio-magnésio e sal de bromo-iodo (VENIALLE *et al*, 2004). A diferenciação de suas características tem importância em relação ao tipo de terapia a que será destinada. Assim, por exemplo, no tratamento de peles acneicas, a água utilizada deve ser sulfurosa, em função das suas propriedades bactericidas (CARABELLI *et al*, 1998).

Apesar do tradicional uso do *Fango* em *Spas*, não existem estudos aprofundados sobre sua composição geoquímica relacionada ao uso cosmético. (SUMMA & TATEO, 1997; CARRETERO, 2002).

Traços de metais pesados foram detectados em amostras do *Fango* e estão relatados na literatura, podem ter sido introduzidos por processos naturais, erosão ou por atividades humanas exploratórias atuantes na área (BRADY, 1989¹). Sua quantificação é importante para verificação do eventual

risco de intoxicação quando em contato com a pele nos diversos tratamentos (SUMMA & TATEO, 1997; CARRETERO, 2002).

Eishelsdörfer, 1992, ressaltou a importância da avaliação microbiológica no *Fango*, em função do tipo de utilização em tratamento de doenças e uso cosmético, principalmente em razão da possibilidade da presença de microrganismos patogênicos, como *Escherichia coli*, coliformes fecais e totais, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, que devem ser analisados em meios específicos. É também importante considerar o controle parasitológico presente no *Fango*, visto que a presença da *Larva migrans cutânea* pode acarretar infecção tópica.

No Brasil, o *Fango* é conhecido erroneamente como “lama negra”, em função de sua coloração. Existem duas fontes importantes exploradas terapeuticamente no nosso país, no Município de Araxá, Estado de Minas Gerais (Araxá-MG) e no Município de Peruíbe, Estado de São Paulo (Peruíbe-SP).

O complexo do Barreiro, localizado na cidade de Araxá, Minas Gerais, é historicamente reconhecido pelas suas propriedades terapêuticas. A fonte Andrade Júnior, localizada em frente ao Grande Hotel de Araxá, possui características alcalinas, sulfatadas e sódicas, conferindo ao *Fango* (produzido no local) atividade calmante, emoliente, antiinflamatória, analgésica, antialérgica e auxiliar no tratamento de doenças dermatológicas, entre outras (HOTEL TROPICAL ARAXÁ).

Existem vários relatos sobre as funções terapêuticas do *Fango* de Araxá, em função do sucesso dos tratamentos realizados naquele local. Não existem referências bibliográficas que registrem os critérios de coleta das amostras; as

condições de transporte e de armazenamento; a caracterização físico-química, microbiológica, parasitológica e de metais, que refletirão na qualidade, segurança e eficácia do *Fango* permitindo seu uso em formulações tópicas.

Para que o *Fango* seja qualificado como matéria-prima de uso cosmético é necessário seguir as diretrizes da Portaria 295/98 estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Esta Portaria estabelece critérios para inclusão de substâncias como matéria-prima para uso cosmético, para a definição destes critérios foi considerado como referência a Diretiva da União Européia "Advisory Notes on the Preparation of Submission of Toxicological Data to the E C Comission"

Os critérios que devem ser considerados são: comprovação da segurança do produto incluindo informações técnicas da substância, as indicações de uso, os estudos toxicológicos que demonstrem a segurança, bibliografia científica indexada e comprovação de uso em outros países, se for o caso.

As características do fango que foram avaliadas neste trabalho estão de acordo com as exigências de especificações de matérias-primas de uso cosmético, que devem ter as características físicas, físico-químicas, microbiológicas, parasitológicas e o controle do nível de metais quando se destinar à aplicação tópica "in natura" ou incorporada em um produto cosmético.

A avaliação de matérias-primas, seja de origem natural ou sintética se faz necessário, pois indica a possibilidade de seu uso tópico e cosmético e garante a qualidade do produto final, que refletirá em sua segurança de uso e na eficácia do efeito pretendido.

2. OBJETIVOS

(i) Padronizar as técnicas de análise física, físico-química, microbiológica, parasitológica e de metais do *Fango* provindo de Araxá-MG "*in natura*" e após o processo de maturação, a fim de obter dados que permitam sua utilização do *Fango* como matéria-prima para uso em formulações cosméticas de forma segura e eficaz.

(ii) Determinar as especificações técnicas do *Fango* para uso cosmético.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Solos minerais (inorgânicos)

Os solos minerais são compostos por quatro componentes principais: substâncias minerais (45%), matéria orgânica (5%), água (de 20 a 30%) e ar (de 20 a 30%). A parcela inorgânica é variável em quantidade e composição, sendo normalmente composta por pequenos fragmentos de rocha e minerais diversos. Os fragmentos de rocha são oriundos de rochas maciças da qual se formaram o rególito e daí o solo, em razão do intemperismo (**Quadro 1**) (BRADY, 1989^{a,h,i}).

Quadro 1. Descrição das quatro classes de tamanhos principais de partículas inorgânicas e suas propriedades gerais (BRADY, 1989^h).

Tamanho da Fração	Nome comum	Meios de Observação	Composição dominante
Muito grosso	Pedra e Cascalho	Olho nu	Fragmentos de Rocha
Grosso	Areias	Olho nu	Minerais primários
Fino	Silte	Microscópio	Minerais primários e secundários
Muito fino	Argila	Microscópio Eletrônico	Minerais secundários na sua maioria

O solo mineral, em termos da distribuição física, é uma mistura porosa de partículas inorgânicas, matéria orgânica em decomposição, ar e água. Os fragmentos minerais de maior tamanho se encontram inseridos em materiais coloidais finos e por eles revestidos. Nos solos cascalhentos ou arenosos, predominam as partículas maiores, já nos solos argilosos, predominam os minerais coloidais. A matéria orgânica funciona como agente aglutinador para

auxiliar as partículas silicadas a se enfeixarem em torrões ou agregados (BRADY, 1989^{a,h}). Para o estudo das partículas do solo mineral, estas devem ser separadas em grupos por tamanho, que são denominados *frações granulométricas*. O processo analítico em que se separam as partículas é denominado *análise por tamanho de partícula* (MELO, 2004). Foram delineadas uma série de classificações diferentes e as faixas de tamanho de quatro desses sistemas são apresentados conforme a **Figura 1**.

Tamanho da partícula						
	0.002	0.006	0.02	0.06	0.2	0.6 2.0mm
Instituto Britânico de Padrões	Fino Medio		Grosso	Fino	Médio	Grosso
	argila					cascalho
Sociedade Internacional de Ciência do Solo	Silte			Areia		
	argila Silte		Areia			cascalho
			Fino	Grosso		
	0.002		0.02		0.2	2.0mm

Figura 1. Classificação das partículas do solo, de acordo com os tamanhos, mediante dois sistemas: Instituto Britânico de Padrões e Sociedade Internacional de Ciências do Solo (BRADY, 1989^b).

3.2 Solo orgânico

Os solos orgânicos propriamente ditos são aqueles que possuem em sua composição mais de 20% de matéria orgânica ou aqueles que contêm de 12% a 18% de matéria orgânica dependendo do conteúdo argiloso (BRADY, 1989^j).

Acúmulos de depósitos orgânicos são encontrados em regiões de pântanos, brejos e banhados. O ambiente altamente favorável dessas zonas e a adjacência estimulam o crescimento de vegetais como espigas-d'água (*Potamogeton*), tifa (*Typha*), ciperáceas (*Carex*), juncos (*Phragmites*) e outras gramíneas, musgos (*Sphagnum*), arbustos, assim como árvores. Inúmeras gerações desses vegetais prosperam, morrem e submergem, ficando cobertas pela água em que se desenvolveram e depositam diversas camadas de resíduos orgânicos. A água exclui o ar e impossibilita a oxidação rápida, agindo, assim, como conservante (BRADY, 1989^j).

3.3 Propriedades físicas do solo

Para se determinar as propriedades físicas do solo são consideradas a textura e estrutura. A textura do solo relaciona-se com a distribuição granulométrica de suas partículas. As classes texturais do solo são três: arenoso, franco-arenoso e franco-siltoso. A estrutura do solo, por sua vez, refere-se ao agrupamento ou organização das partículas de solo e, no senso estrito, é termo de campo que descreve a combinação maciça ou arrumação global das frações granulométricas primárias do solo em agrupamentos secundários denominados *agregados* ou “*pedos*” (BRADY, 1989^{a, b, c, g, i}).

O perfil do solo poderá ser denominado por um único tipo de agregado, mas vários tipos podem ser encontrados em diferentes horizontes. As condições e características do solo, tais como: movimentação da água, transferência de calor, aeração, densidade aparente e porosidade são consideravelmente influenciados pela sua estrutura (BRADY, 1989^{a, b, c, h, i}).

A matéria orgânica presente no solo é o principal agente desencadeador da formação dos agregados dos tipos granular e grumoso. Na superfície do solo é a matéria orgânica, que além de se aglutinar, também se torna mais leve e se expande, o que possibilita a porosidade tão característica dos agregados de solos específicos. As propriedades químicas do humo e da argila provavelmente são eficazes na constituição e posterior estabilização de agregados. Além disso, muco e outros produtos microbianos viscosos favorecem o desenvolvimento do grumo e exercem também influência estabilizadora. A granulação assume, assim, aspecto altamente biológico (BRADY, 1989^{a, b, c, h, i}).

Existem três fatores que influenciam na estabilidade de agregados:

1. Ação temporária de aglutinação de microrganismos, especialmente fungos do gênero *Mycelia*. Esta influência é acentuada com a presença de matéria orgânica no solo.
2. Efeito de cementação dos produtos intervenientes da síntese e da decomposição microbiana, tais como gomas de produção microbiana e certos polissacarídeos.
3. Efeito de cimentação dos componentes mais resistentes e estáveis do humo, auxiliados por ação similar de certos compostos inorgânicos, como óxidos de ferro.

A estabilidade de agregados não decorre apenas da matéria orgânica, pois existe interação contínua entre componentes inorgânicos como: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} , que funcionam como “pontes” entre a matéria orgânica e as argilas do solo, estimulando o desenvolvimento dos complexos argila-matéria orgânica (BRADY, 1989^{a, h, j}).

Quanto maiores forem os agregados presentes em um determinado solo, em regra geral, menor será sua estabilidade (BRADY, 1989^{a, h, j}).

3.4 Propriedades químicas do solo

3.4.1 Colóides no solo

Dispersões cujo tamanho das partículas encontram-se na faixa de 10^{-9} m (1nm) até cerca de 10^{-6} m (1 μm) são denominadas coloidais (AULTON, 2005).

As frações de argila atingem tamanho máximo de $2\mu\text{m}$ e nem todas são estritamente coloidais, porém mesmo assim, partículas maiores possuem características do tipo coloidal (BRADY, 1989^c).

As parcelas em estado coloidal são as mais ativas do solo. Existem dois tipos distintos de matéria coloidal, orgânico e inorgânico, misturados entre si. O tipo orgânico está representado sob a forma de humo e os inorgânicos encontram-se presentes quase que exclusivamente sob a forma de minerais argilosos de diversas formas (BRADY, 1989^c).

São reconhecidos, de maneira geral, dois grupos de argilas: (a) silicatadas, características de regiões temperadas e (b) óxido-hidratadas de ferro e alumínio, predominantes em solos muito desagregados dos trópicos e semi-trópicos (BRADY, 1989^c).

3.4.2 Colóides orgânicos - humo

O humo possui estrutura coloidal muito semelhante à da argila. Um ânion altamente carregado (micela) é circundado por um grande número de cátions adsorvidos (Figura 2) (CARDOSO, 2004).

As principais diferenças entre as micelas húmicas e as inorgânicas podem ser descritas da seguinte forma: o complexo humo-micela é basicamente composto por carbono, hidrogênio e oxigênio, em vez de alumínio, silício e oxigênio, como é o caso das argilas silicatadas. A micela do humo não é considerada cristalina e o tamanho das partículas específicas, embora extremamente variável, poderá ser tão pequeno quanto os das partículas das argilas silicatadas. Além disso, o humo não é tão estável como a argila e, de certo modo, é mais dinâmico, porque é formado e destruído com maior rapidez do que a argila (CARDOSO, 2004; BRADY, 1989 ⁶).

Figura 2. Adsorção de cátions pelos colóides húmicos. Os grupos hidroxílicos fenólicos (—OH) se encontram vinculados aos radicais aromáticos; os grupos carboxílicos (—COOH) estão fixados aos outros átomos de carbono na unidade central, que apresentam semelhanças com a sistemática de adsorção nas argilas silicatadas (CARDOSO, 2004).

A carga negativa dos colóides do humo é dependente do pH, como é o caso de algumas argilas silicatadas e óxidos hidratados. Em valores de pH extremamente ácidos, o hidrogênio é fortemente retido e não é fácil a substituição por outros cátions. Por conseguinte, o colóide exibe baixa carga negativa e por este motivo, é reduzida sua capacidade adsortiva. Com a elevação do pH, ioniza-se inicialmente o hidrogênio dos grupos carboxílicos, e a seguir, aquele presente nos grupos enólico e fenólico e são substituídos por cátions, como o magnésio. Sob condições alcalinas, a capacidade adsortiva do humo excede consideravelmente a da maioria das camadas de argilas silicatadas (CARDOSO, 2004; BRADY, 1989^d).

3.5 Solos alcalinos

Os solos alcalinos não contêm grandes quantidades de sais solúveis e neutros e a elevação do valor do pH se deve, principalmente, à hidrólise do carbonato de sódio (**Reação 1**). O complexo de sódio é também submetido à hidrólise (**Reação 2**) e o pH situa-se acima de 8,5 e com freqüência alcança o valor 10,0 ou mais. (BRADY, 1989^d).

Reação 1. Hidrólise do carbonato de sódio.

Reação 2. Hidrólise do complexo de sódio.

A superfície dos solos alcalinos é geralmente descorada pelo húmus disperso, que é carregado pela água para a superfície, por capilaridade; por isso, é com frequência denominado *álcali negro*. Estes solos localizam-se, via de regra, em pequenas áreas denominadas *manchas lustrosas*, circundadas por solos bastante produtivos (BRADY, 1989^d).

3.6 Matéria orgânica no solo

3.6.1 Propriedades

A matéria orgânica influencia algumas propriedades do solo, dentre as quais podemos citar (CARDOSO, 2004; BRADY, 1989^{a, f, j}):

- a)** Cor do solo – castanha a parda
- b)** Propriedades físicas – auxilia a granulação, reduz a plasticidade e a coesão, aumenta a capacidade de retenção de água.
- c)** Capacidade de permuta de cátions – eleva de duas a trinta vezes mais em peso, em relação aos colóides minerais (30 a 90% do poder de adsorção de íons).
- d)** Suprimento e disponibilidade de nutrientes – presença de cátions facilmente permutáveis; nitrogênio, fósforo, enxofre e micronutrientes retidos sob a forma orgânica; e liberação de elementos dos minerais pelo humo ácido.

3.6.2 Fontes

A fonte primária principal de matéria orgânica no solo é o tecido vegetal, oriundo das plantas, que é decomposto e digerido pelos diversos tipos de organismos do solo, transformando-se em fração do horizonte subjacente,

mediante infiltração ou incorporação física real (NEVES, M.C.P. & RUMJANECK, 1992; BRADY, 1989^{a, f, j}).

Os animais são considerados como fontes secundárias de matéria orgânica. À medida que consomem os tecidos originais das plantas, contribuem com produtos residuais e também deixam seus próprios corpos, quando de sua morte. A umidade dos resíduos vegetais varia de 60 a 90%, sendo considerado o valor médio de 75%. Com base no peso, a matéria seca é, principalmente, constituída de carbono e oxigênio, com menos de 10% de hidrogênio e igual valor para elementos inorgânicos (cinzas) (VITORIA, R.L. et al, 1992; BRADY, 1989^{a, f, j}).

Embora 90% da matéria seca seja constituída por carbono, hidrogênio e oxigênio; os outros elementos, como: nitrogênio, enxofre, fósforo, potássio, cálcio e magnésio desempenham papel fundamental na nutrição vegetal (VITORIA, R.L. et al, 1992; NEVES, M.C.P. & RUMJANECK, 1992; BRADY, 1989^{a, f, j}).

3.6.3 Decomposição e componentes relacionados

Segundo TAN (1994) a matéria orgânica pode, ainda, ser dividida em compostos humidificados e compostos não humidificados.

Os compostos não humidificados envolvem os carboidratos, aminoácidos, proteínas, lipídeos, lignina, etc. produzidos quando os tecidos animais e vegetais são decompostos no solo. Estes compostos influenciam na síntese de outras substâncias, denominadas humidificadas, como por exemplo, os ácidos húmicos e fúlvicos (TAN, 1994; OADES, 1989 ; SIQUEIRA, 1988).

Os tecidos vegetais são facilmente decompostos por microrganismos, existindo, geralmente, 400g de carbono por quilograma de tecido vegetal seco.

A matéria orgânica não humidificada é oriunda dos compostos produzidos durante a decomposição dos tecidos orgânicos incorporados ao solo. Apesar de existirem muitos compostos na composição dos tecidos orgânicos, apenas alguns tipos principais são detectados quantitativamente no solo. (TAN, 1994; OADES, 1989; SIQUEIRA, 1988)

O **Quadro 2** apresenta os principais componentes dos tecidos vegetais e os produtos de sua hidrólise. A solubilidade das substâncias decresce em direção à parte inferior do quadro (TAN, 1994; OADES, 1989; SIQUEIRA, 1988).

Quadro 2 Principais componentes dos tecidos vegetais e produtos de sua hidrólise no solo (TAN, 1994; OADES, 1989 ; SIQUEIRA, 1988).

Constituinte	Conteúdo %	Produto de hidrólise
1. Carboidratos	30 -75	Açúcares simples Ácidos orgânicos
Celulose	20 – 50	Glicose
Hemicelulose	10 – 30	Glicose Manose Xilose Arabinose
Substâncias pécicas	1 -10	Ácido galacturônico Galactose Arabinose Ácido acético e outros
Açúcares (hexoses e pentoses)	1 -5	Glucose Frutose Sacarose Xilose Arabinose
2. Ligninas	10 – 30	Compostos fenólicos Metanol
3. Compostos nitrogenados, fosfatados e sulfatados (proteínas, aminoácidos e ésteres)	1 – 15	Peptídeos Aminoácidos Ácidos orgânicos Álcoois Fosfato Amônia Sulfato
4. Outros Constituintes	5 - 20	Decomposição muito lenta, difícil de ocorrer a hidrólise

Os carboidratos são componentes importantes dos tecidos vegetais, podendo representar até 75% do peso seco da planta, podendo ser simples (monossacarídeos) ou polimerizados (formando polissacarídeos) e representam a fonte mais imediata para os microrganismos; sofrer decomposição aeróbica, por oxidação (a gás carbônico e água) ou anaeróbica, com ausência de oxigênio. (TAN, 1994; OADES, 1989; SIQUEIRA, 1988).

No solo, a lignina é uma fonte importante para a formação da matéria humificada (TAN, 1994; OADES, 1989; SIQUEIRA, 1988).

Compostos orgânicos nitrogenados como aminoácidos e proteínas representam fontes potenciais de carbono e nitrogênio, em função da abundância presente na matéria orgânica em solos orgânicos e baixa relação carbono/hidrogênio (C/N). (LERCH et al., 1992). Os microrganismos proteolíticos são de ocorrência generalizada em solos e biossolos. (HANKIN & HILL, 1978; LOLL & BOLLAG, 1983).

Os compostos orgânicos podem ser classificados de acordo com sua facilidade de decomposição, como descrito (CARDOSO, 2004): açúcares, amidos e proteínas simples decompõem-se rapidamente; e proteínas, hemiceluloses, celulose, e ligninas, gorduras e ceras que se decompõem lentamente.

3.6.4 Características do humo

As principais características do humo podem ser descritas como: as partículas coloidais do humo (micelas) são compostas de carbono, hidrogênio e oxigênio, provavelmente sob a forma de ligninas, poliuronídeos e polissacarídeos modificados; a área de exposição dos colóides do humo é muito elevada e, geralmente, excede à das argilas silicatadas; as superfícies coloidais do humo são negativamente carregadas, com grupamentos carboxílicos ou fenólicos e o dimensionamento da carga negativa depende do pH, sendo maior com valores elevados de pH; na presença de valores elevados de pH, a capacidade de permuta de cátions excede, consideravelmente à da maioria das argilas silicatadas (150 a 300 cm²/kg); com base no peso, a capacidade de retenção de água do humo é 4 a 5 vezes superior à das argilas silicatas; absorve, de uma atmosfera saturada, o

equivalente a 80 a 90% do seu peso em água; possui plasticidade e coesão reduzidas, o que responde por sua influência favorável na formação e na estabilidade de agregados; a cor escura do humo auxilia a distingui-lo da maioria dos outros componentes coloidais do solo; e as reações de permuta de cátions com o humo são qualitativamente semelhantes àquelas que ocorrem com as argilas silicatadas (CARDOSO, 2004).

O grau de complexidade, o tamanho e o peso molecular dos ácidos húmicos, é muito semelhante ao das argilas, podendo ser representados com a mesma fórmula estrutural. As micelas húmicas apresentam as mesmas partículas de cátions adsorvidos, como cálcio, magnésio, hidrogênio, potássio, sódio, dentre outros. (CARDOSO, 2004).

As substâncias humidificadas podem ser divididas em ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e huminas. A distinção entre estas substâncias é feita com base em sua solubilidade em ácidos e bases (TAN, 1994; OADES, 1989; SIQUEIRA, 1988).

Os ácidos fúlvicos são solúveis em ácidos, bases e água e possuem baixa massa molar quando comparados com os ácidos húmicos e huminas, enquanto os ácidos húmicos são solúveis apenas em bases e possuem os mais altos valores de massa molar no grupo das substâncias humidificadas. As huminas são as substâncias humidificadas que não são solúveis em água, ácidos ou bases (TAN, 1994; OADES, 1989; SIQUEIRA, 1988)

3.6.5 Degradação

As moléculas decompostas na degradação da matéria orgânica são ressintetizadas por enzimas microbianas do grupo das fenolases ou espontaneamente, quando o valor do pH é superior a 8,5 (CARDOSO, 2004).

As hemiceluloses são as primeiras macromoléculas que passaram pela decomposição, seguidas pela celulose, e por fim pela lignina. Com o passar do tempo, existe a predominância de ligninas e seus derivados no solo, como por exemplo, polifenóis (CARDOSO, 2004).

As moléculas de húmus, produto oriundo da decomposição da matéria orgânica, possuem massa molar elevada na sua estrutura química e ligações fenólicas, com radicais variáveis como ácidos, álcoois, aminoácidos, oligossacarídeos, peptídeos, resíduos da degradação de RNA, DNA, ceras, cutina e ácidos graxos dentre outros (CARDOSO, 2004).

Acredita-se que as características terapêuticas diferenciais do *Fango* em relação as outras terapias que utilizam apenas os argilominerais se relacionam com a presença desses compostos orgânicos, provenientes da degradação da matéria orgânica (CARDOSO, 2004).

3.7 Spas

3.7.1 Histórico das terapias

Os banhos com águas termais datam de muito tempo na história e sua popularidade se fez presente continua ao longo dos séculos. A palavra *Spa*, muito utilizada nesta terapia, pode ter sido derivada da Bélgica, na província de Wallon, onde *Espa* significa “fonte”, na qual a terapia era efetuada na forma de banhos com finalidade terapêutica. Na Inglaterra, a palavra *Spa* é a mais

utilizada, mas nos outros países da Europa, o termo mais utilizado é água termal (TUBERGAN & LINDEN, 2002). No Brasil essa terapia é referida como banho termal.

No período Homérico, os banhos tinham a finalidade de limpeza e higiene e apenas pessoas saudáveis da alta sociedade banhavam-se em chamados “banhos privados”. No período que vai de 460 a 370 a.C, os banhos termais passaram a ser utilizados em diversas terapias e acreditava-se que todas as desordens relacionadas aos fluidos corporais poderiam ser tratados com as águas termais. Além dos banhos, as terapias da época combinavam trabalhos de respiração, massagem corporal, caminhadas e esportes em geral. O tratamento em *Spa*, naquela época, consistia em mergulhar partes do corpo que estariam afetadas na água termal, principalmente as que possuíam desordens reumáticas e urogenitais e beber abundantemente a água (TUBERGAN & LINDEN, 2002).

Desde a Antigüidade até os dias atuais, o interesse nas águas medicinais oscilou bruscamente. Os banhos foram diversas vezes proibidos, pois acompanhavam a condição histórica que a nação vivia no momento. Na Inquisição, por exemplo, a terapia com as águas termais foi postulada como “bruxaria” e quem a utilizasse era punido (TUBERGAN & LINDEN, 2002).

Baseado em evidências clínicas terapêuticas e cosméticas, os profissionais da área da saúde passaram a investigar os benefícios das águas termais incorporadas às *Turfas* e, atualmente, suas propriedades e o potencial de emprego nos diversos segmentos são explorados cientificamente em diversas áreas do conhecimento.

3.7.2 Uso de argilominerais associados às águas

Os argilominerais são amplamente utilizados em *Spas* e misturados com: água (geoterapia), água do mar ou dos lagos salgados ou com águas medicinais e, depois, são maturados (peloideterapia) ou acrescidos com parafina (pacotes de lama/*paramuds*). As principais propriedades dos argilominerais envolvem: capacidade de absorção/adsorção e de troca iônica, propriedades plásticas e reológicas. (CARRETERO, 2002; BECH, 1987; ROBERTSON, 1996).

Dependendo da atividade terapêutica, as argilas minerais podem ser administradas oral ou topicamente. No caso da administração oral, envolve a proteção gastrintestinal, pois as argilas aderem à mucosa intestinal, protegendo-a e absorvendo toxinas, bactérias e vírus. A aplicação tópica veiculada em formulações farmacêuticas e cosméticas destina-se à proteção da pele dos agentes externos, pela formação de um filme. Nos produtos cosméticos, as argilas minerais são utilizadas na forma de máscaras faciais, com a finalidade de adsorver o sebo (oleosidade) e toxinas presentes na epiderme, podendo ser utilizadas em peles oleosas e acneicas (CARRETERO, 2002).

3.7.3 Geoterapia

A geoterapia envolve a mistura de um ou mais argilominerais à água, sendo aplicada diretamente sobre a pele, formando um filme de aproximadamente 1cm de espessura. A aplicação pode ser feita sob a forma de cataplasmas ou banhos de lama, dependendo da área do corpo a ser tratada. Ambas são utilizadas no tratamento de desordens dermatológicas,

como, por exemplo, escarras, acne, úlcera, abscesso e seborréia, dentre outros, e no alívio de dores causadas por doenças inflamatórias crônicas como reumatismo e traumatismos por esportes (CARRETERO, 2002).

3.7.4 Cataplasma

O cataplasma é utilizado quando a “lama” é aplicada numa área pequena do corpo. Nas patologias agudas, a temperatura de aplicação da lama deve ser menor do que a do corpo (“lamas frias”). Neste caso, a mistura de argilominerais à água produz o resfriamento da área em tratamento. A ação antiinflamatória do cataplasma é explicada porque funciona como bom condutor térmico, com capacidade de reter o calor produzido nos processos inflamatórios, promovendo a vasoconstrição no local afetado (CARRETERO, 2002)

3.7.5 Banhos de lama

Os banhos de lama são utilizados quando a área de aplicação é extensa. Esse tratamento consiste em submergir partes do corpo na mistura de argilominerais e água. A temperatura de aplicação (fria ou quente) depende da função terapêutica que a “lama” irá exercer, como por exemplo:

a -) Peloideterapia ou *Peloid* terapia

A Sociedade Internacional de Medicina Hidroterápica define o termo *peloid* como um produto natural formado pela mistura de águas salinas de lagos ou mares ou águas minerais medicinais (fase líquida) com material

orgânico e inorgânico (fase sólida) produzidos pela ação biológica (húmus/*Turfa*) e ação geológica (argilominerais). O produto resultante é aplicado topicamente para a ação terapêutica na forma de cataplasma ou banhos e o tratamento envolvido recebe o nome de “peloterapia” ou “peloideterapia” (VENIALLE et al, 1997; CARRETERO, 2002).

Durante o processo de maturação, algumas propriedades dos argilominerais, como por exemplo, a plasticidade, a capacidade de absorção e de resfriamento se intensificam. Estas modificações no pelóide (*Fango*) melhoram as propriedades requeridas para seu uso nos *Spas* (VENIALLE et al, 1999; CARRETERO, 2002)

Na peloideterapia o produto é aplicado à quente (40-45 °C), na espessura de 1 a 2cm, por 20 a 30min e é coberto por material impermeável capaz de conservar o calor corporal na pele. Este é conduzido pela pele para as camadas mais profundas e depois de 10 min, atinge o interior do corpo até a circulação sangüínea. A aplicação do *peloid* produz a sensação de calor na área tratada, vasodilatação, eleva a transpiração e estimula a frequência cardíaca e respiratória. Os *peloids*, no entanto, têm em geral, ação estimulatória, antiinflamatória, analgésica e são indicados nos processos reumáticos crônicos, osteoartrite degenerativa e neuralgias, dentre outras. No entanto, são contra-indicados nos processos agudos e sub-agudos do reumatismo, cardiopatias, tuberculose e deficiência renal e hepática (CARRETERO, 2002)

b-) Paramuds

Os *paramuds* envolvem a mistura de parafina com argilominerais, aplicados quentes (40 – 45 °C) na pele dos pacientes na espessura de 1 a 5 cm, por um período de 20 a 30 min. São utilizados nos mesmos tratamentos indicados na peloterapia (CARRETERO, 2002).

3.8 Fango (Pelóide)

3.8.1 Processo de maturação

O processo de obtenção do pelóide ou *Fango* envolve a sua maturação, adicionando água proveniente do mar, lagos, fontes termais à argilominerais e *Turfa* (húmus) (VENIALLE *et al*, 2004; CARRETERO, 2002).

A composição geoquímica das águas descritas anteriormente possui propriedades químicas distintas, como por exemplo: enxofre (denominada sulfurosa), sulfato de cálcio, sulfato de cálcio-magnésio e sal de bromo-iodo (VENIALLE *et al*, 2004; CARRETERO, 2002) de acordo com o tipo de tratamento. Nas peles acneicas, a água utilizada é a sulfurosa, em função de sua propriedade bactericida (CARABELLI *et al*, 1998; VENIALLE *et al*, 1999; CARRETERO, 2002)

Em geral, o processo envolve o repouso da mistura descrita por 6 meses à temperatura ambiente **Figura 3** e ao ar livre, seguido do tratamento de limpeza e esterilização **Figura 4** do *Fango*. Em Araxá-MG, a maturação do *Fango*, envolve a ação da radiação solar sobre os argilominerais, água sulfurosa e *Turfas*, com duração mínima de 6 meses e armazenado em tonéis de alvenaria expostos ao ar livre e à temperatura ambiente. Nessa última

etapa, a matéria orgânica presente nas *Turfas* é decomposta pela ação das bactérias presentes.

Figura 3 – Fotografia do fango em temperatura ambiente ao ar livre

Figura 4. Fotografia do equipamento utilizado para esterilização do fango.

As moléculas decompostas neste processo são ressintetizadas por enzimas microbianas do grupo das fenolases ou espontaneamente, quando o valor do pH é superior a 8,5 (CARDOSO, 2004). As hemiceluloses são as primeiras macromoléculas decompostas, seguidas pela celulose, e por fim,

pela lignina. Com o passar o tempo, existe predominância no solo de ligninas e seus derivados, como polifenóis. As moléculas de húmus, produto oriundo da decomposição, possuem massa molar elevada, e têm em sua estrutura química ligações fenólicas com radicais variáveis (ácidos, álcoois, aminoácidos, oligossacarídeos, peptídeos, resíduos da degradação de RNA, DNA, ceras, cutina e ácidos graxos dentre outros) (CARDOSO, 2004).

Acredita-se que as características terapêuticas diferenciais do *Fango* em relação às outras terapias que utilizam apenas os argilominerais se relacionam com a presença desses compostos orgânicos provenientes da degradação da matéria orgânica (CARDOSO, 2004). Após o referido período de 6 (seis) meses, o *Fango* passa por filtros de peneiramento de malhas distintas, que têm a finalidade de reter as partículas de tamanho maior como as pedras e areias, que não têm ação terapêutica. Na sequência, o *Fango* é sanitizado, por aquecimento, impossibilitando o crescimento de microrganismos viáveis e garantindo, assim, a segurança na aplicação tópica nos usuários. O processo de obtenção do *Fango* pode ser visualizado com a **Figura 5**.

Figura 5. Passos para obtenção do *Fango*. Nota-se em A. que o tonel onde o *Fango* fica por seis meses, exposto ao ambiente, a peneira em cima retém os sedimentos mais grosseiros. As conexões são realizadas por tubulações em aço, que interligam os tonéis de armazenamento e processamento do *Fango*.

3.9 Termas de Araxá

3.9.1 Histórico

O topônimo "Araxá" significa terreno elevado e plano, planalto, chapadão, região mais elevada do que qualquer sistema orográfico e "Araxás são os Índigenas que viviam no tabuleiro elevado do extremo oeste de Minas Gerais". A primeira referência aos índios Araxás, que habitavam as terras entre o Rio das Velhas (Araguari) e o Rio Quebra Anzol, foi feita pela expedição de Lourenço Castanho Taques, no século XVI. A presença dos índios e a proximidade do Quilombo do Ambrósio constituíram obstáculo à ocupação das terras da região. Em 1759, Bartolomeu Bueno do Prado, comandando uma expedição conseguiu destruir a famosa aldeia de escravos fugitivos. Sete anos

depois, Inácio Correia Pamplona exterminou a tribo de índios Araxás. Os primeiros povoados da região vieram para o Desemboque, distrito de Sacramento, atraídos pela exploração do ouro. Posteriormente, com a decadência da mineração, esses moradores dedicaram-se à criação de gado. Entre 1770 e 1780 Araxá recebeu seus primeiros moradores e surgiram as primeiras fazendas da região.

Com a descoberta da fertilidade da terra e o sal mineral nas águas do Barreiro, o povoamento de Araxá se intensificou e, em 1709, foi criada a Capitania de São Paulo e Minas do Ouro em 1816. Graças ao movimento dos moradores do Julgado de Araxá, o Sertão da Farinha Podre (Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba), anexado desde 1766 à Capitania de Goiás retornou à Jurisdição de Minas Gerais e em 19 de dezembro de 1865 a Lei Provincial nº 1259 elevou a Vila de São Domingos de Araxá à categoria de cidade. Em 1915 foi criada a Prefeitura (HOTEL TROPICAL ARAXÁ).

Araxá tem na sua formação geológica riquezas minerais como as águas sulfurosas e radioativas, o nióbio e a apatita. Na Bacia do Barreiro viveram mamíferos pré-históricos há milhares de anos. Nessa região, formou-se um dos maiores quilombos de Minas Gerais, o Quilombo do Ambrósio. O colonizador aqui foi atraído pelo sal natural das águas do Barreiro. A prática da pecuária foi o motivo básico dessa ocupação, seguida por atividades paralelas como o comércio dos tropeiros e mercadores e a agricultura (HOTEL TROPICAL ARAXÁ).

Como todo esse legado cultural, Araxá é, ainda, uma cidade turística - que se convive, por exemplo, com as histórias de Dona Beja - e o valor das

3.9.3 Aspectos da Estância hidrográfica de Araxá

No complexo hidrográfico de Araxá, localizado em frente ao Grande Hotel encontra-se a Fonte Andrade Júnior (**Figura 7**) de características alcalino-sulfurosas. Possui quatro bebedouros que escoam águas mineralizadas, carbonatadas, sulfatada, radioativa e alcalina, indicadas para casos de diabetes, gota, obesidade, desvio de metabolismo, hepatite, disfunções renais, estômago, fígado e problemas dermatológicos (VENIALLE *et al*, 2004; CARRETERO, 2002).

Figura 7. Foto - Fonte Andrade Júnior.

A fonte Dona Beja, fica no nível da via de acesso, numa parede de rochas vulcânicas, onde brotam águas radioativas, cujas propriedades são indicadas para ativar o metabolismo e estimular a diurese, atuando ainda,

como desintoxicante do organismo e agente hipotensivo. (HOTEL TROPICAL ARAXÁ).

No Grande Hotel são oferecidas diversas formas de hidroterapias, entre elas a peloideterapia ou *Fangoterapia*, que são aplicados na forma de banhos (I.S.E. - Araxá, 2006).

3.9.4 Aspectos geoambientais

As principais características ambientais da área do Barreiro foram obtidas do estudo de COMIG/CPRM de 1999 que levantou dados até 1997. Esta área é um dos mais importantes complexos alcalinos do Alto do Paranaíba e encontra-se intrudido em rochas quartizíticas, com xistos subordinados, do Grupo Araxá.

O manto de intemperismo recobre todo o conjunto de rochas do Complexo, contendo importantes depósitos minerais em exploração, como o nióbio (pandaíta), lavrado pela companhia Brasileira de Mineração e Metalurgia (“**CBMM**”) e o fosfato (apatita) pela Arafertil. A reserva de nióbio destaca-se como a maior do mundo, com $461,7 \times 10^6$ ton de minério com teor médio de 2,5% de Nb_2O_5 (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA *et al* 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES *et al*, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

O complexo do Barreiro é formado por rochas plutônicas, de contorno circular, com aproximadamente 4,5 km de diâmetro, com uma área aproximada de 2.516 hectares, modelado pelo anel quartizítico, como encaixante, extremamente fissurado e em parte fenitizado (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO,

1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA et al 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES et al, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

As rochas que constituem o Complexo são conhecidas por meio de estudos de testemunhos de sondagens, uma vez que não ocorre rocha plutônica aflorante. Trata-se predominante de rochas sílico-carbonatadas (predomínio de silicatos sobre carbonatos) (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA et al 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES et al, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

3.9.5 Geomorfologia

As formas de relevo predominante são definidas como morros arredondados e ovalados, com encostas suaves e topos aplainados. A altitude máxima é de 1.222m, situado no extremo sul e o ponto de cota mais baixa é de 935 m, correspondendo ao leito do Córrego do Sal no extremo norte do Complexo (COMIG/ CPRM, 1999; COMIG 2002).

A situação atual do relevo encontra-se num avançado estado de modificação das formas pretéritas, causado pela intensa ação das atividades da mineração e pela ocupação urbana (COMIG/ CPRM, 1999; COMIG 2002).

Nas áreas de mineração, aonde as formas de relevo vão sendo aceleradamente modificadas, a cota é de 1.100 m, no fundo da cava da CBMM. Na mina de fosfato, a cota atinge 980 m altitude definida como a cota mínima das cavas a céu aberto, tendo em vista a manutenção dos níveis piezométricos atuais, sem afetar os recursos hídricos subterrâneos da Estância do Barreiro

por mudança de gradiente hidráulico antropicamente induzidos (MDGEO, 2006; COMIG/CPRM, 1999; COMIG, 2002).

3.9.6 Hidroclimatologia

Segundo a classificação de Nimer, 1997, in *COMIG/CPRM 1999 – Projeto Araxá: Estudo Geoambiental das Fontes Hidrominerais*. Belo Horizonte, a região possui o clima tropical sub-quente e semi-úmido.

Os parâmetros climatológicos foram obtidos do estudo da COMIG/CPRM, 1999 a partir das séries de dados da estação climatológica de Araxá (coordenadas 19°34'S e 46°56'W, a 1.400m de altitude). Os dados considerados compreendem o período de 1917 a 1997, sendo que entre 1960 e 1970 as observações foram interrompidas. Mesmo no período de operação normal existem falhas nas observações de alguns parâmetros (MDGEO, 2006).

O total pluviométrico médio anual (período de 1972 a 1996) é de 1.562 mm. O trimestre mais chuvoso corresponde aos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, que apresentaram precipitação total de 784mm, contribuindo em média, com cerca de 50% do total anual precipitado. O período seco estende-se de maio a setembro, representando menos de 10% das chuvas anuais (MDGEO, 2006).

A temperatura média compensada é em torno de 20,6 °C. Nos meses mais frios, junho e julho, a média compensada é de 17,9 °C e nos mais quentes, fevereiro e março, a média compensada é de 22,0 °C (MDGEO, 2006).

A evapotranspiração potencial anual, pelo método de Thornthwait, para o período entre 1972 e 1996 foi de 937,7 mm (MDGEO, 2006).

Os mananciais superficiais que drenam o Complexo Carbonatítico de Araxá são representados pelo Córrego da Mata que ocupa a sua faixa oriental; o Córrego Baritina na faixa central, e o Córrego Cascatinha que ocupa a zona centro-ocidental do Complexo; todos formadores do Córrego do Sal no trecho circunscrito à Estância do Barreiro. O Córrego do Sal por sua vez deságua no rio Capivara, o qual tem um curso de escoamento rápido, que funciona como receptor de esgoto da área do Barreiro (MDGEO, 2006).

Estas micro-bacias que compõem a sub-bacia do Córrego do Sal encontram-se sob influência direta das operações minero-industriais da CBMM e da Bunge Fertilizantes S.A (MDGEO, 2006).

Esses mananciais, via de regra, são formadores de corpos d'água e para a realimentação dos aquíferos (MDGEO, 2006).

3.9.7 Uso e ocupação do solo

A ocupação minero-industrial do Complexo Carbonatítico integra uma área de domínio geológico caracterizado por mineralizações que se constituem em jazimentos econômicos na sua, faixa central, nucleada na forma dômico-circular com diâmetro da ordem de 4.500m: compreende a exploração e a industrialização do minério de nióbio pela CBMM e a de rocha fosfática pela Bunge Fertilizantes S.A. (MDGEO, 2006; COMIG/ CPRM, 1999; COMIG 2002).

A área de ocupação do Complexo Turístico da Estância do Barreiro corresponde à faixa extrema ao norte deste complexo, em zona anelar extrema ao corpo mineral carbonatítico, incluindo a área de captação e exploração de água subterrânea – água mineral, que é engarrafada e comercializada. O Complexo Turístico do Barreiro é constituído por um conjunto de edificações

em estilo missões, com área construída de 46.000 m² compondo o Grande Hotel, Tremas, fontanários das Fontes Andrade Júnior e Dona Beja, lagos e matas, que formam um conjunto de grande importância turística, cultural e histórica (MDGEO, 2006).

Essas atividades, aparentemente conflitantes, têm coexistido durante as últimas décadas, não havendo registro histórico de modificações nas características físico-químicas da fonte Andrade Júnior e Dona Beja (MDGEO, 2006) até o presente.

3.9.8 Domínios litológicos do Complexo Carbonatítico de Araxá

O Complexo do Barreiro caracteriza-se pela forma dômico-circular de diâmetro aproximado de 4,5 km como resultado de corpo máfico-alcalino intrusivo tendo como encaixantes os quartzos e os xistos do Grupo Araxá, fenitizados na zona anelar de contato (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA *et al* 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES *et al*, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

Os corpos mineralizados que se constituem jazimentos econômicos, produtos oriundos da diferenciação magmática, são caracterizados por carbonatitos associados a rochas-matrizes com os litotipos de beforsito e sovito, e lipotipos intermediários de beforsito/glimerito, beforsito com glimerito subordinado que compõe o centro complexo, e o lipotipo glimerito com berfosito subordinado – este último compondo o anel externo do corpo intrusivo, já no domínio próximo da auréola de contato com as rochas encaixantes, fenitizadas a anfibólios sódicos do tipo arfvedonita (BARBOSA *et*

al, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA et al 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES et al, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

As rochas matrizes carbonatítica originárias do enriquecimento supergênico de fosfato e nióbio compreendem um sistema complexo de veios e diques de diferentes espessuras e formas de ocorrência, e sob fases distintas de eventos consecutivos de injeção magmática, cuja composição básica é marcada pelos minerais de calcita e ankerita, barita e apatita, em que o lipotipo apatita-beforsito caracteriza a rocha-matriz, contendo cerca de 20% de apatita (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA et al 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES et al, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

Os glimeritos são constituídos de piroxenitos metassomatizados, ricos em flogopita – filossilicato complexo de potássio, flúor, ferro, magnésio e titânio, que ocorrem predominantemente entre a auréola de contato dos quartzitos e xistos fenitizados, e a porção central carbonatítica de berfosito e sovitos. Essas rochas glimeríticas apresentam-se cortadas por diques de beforsitos e sovitos em que, muitas das vezes, os minerais de apatita e magnetita são pouco comuns (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA et al 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES et al, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

Os fenitos encontram-se no domínio da auréola metassomática, intensamente transformados e distintos dos quartzitos e xistos dos quais se originaram, mediante metassomatismo alcalino generalizado destas encaixantes, sob choque termal, em região mais próxima do contato com o

corpo intrusivo. Os quartzitos estão fortemente fraturados e com suas fissuras preenchidas por sódio-anfibólito (hornblenda alcalina) e feldspato alcalinos, enquanto os xistos encontram-se parcialmente fenitizados e preenchidos por sódio-anfibolito e sódio-ortoclásio, ao longo da xistosidade e fraturas transversais à mesma (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA *et al* 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES *et al*, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

Estes fenitos apresentam-se segundo dois tipos de ocorrência: (i) 65% de porfiroblastos de quartzo e 35% de uma matriz de aspecto tranqüítica contendo feldspato alcalino; (ii) porfiroblasto de feldspato alcalino e lentes de quartzito, ambos dispersos na matriz de aspecto raquítica, rica em limonita e biotita, contendo pouca calcita e Na-piroxênio (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA *et al* 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES *et al*, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

Os lateritos e saprolitos originários da rocha primária constituem-se os corpos de minérios de fosfato e nióbio (BIONDI, 2003), de interesse econômico, explorados em minas com cavas a céu aberto, tendo como *pit* final de profundidade, a referida cota de 980 m. Esses corpos de minério compõem espessuras significativas, tendo sido localmente encontrada a interface do saprolito com a rocha fresca, a profundidades da ordem de duas centenas de metros. Suas características liticas compreendem basicamente uma composição mista de três espécies minerais, tais como: (i) óxidos férricos (goethita, hematita), (ii) caolinita e outros minerais argilosos, e (iii) hidróxidos de

alumínio (gibbsita, boemita, diáspora, entre outros) que caracterizam os lateritos ferríticos, caoliníticos e bauxíticos (BARBOSA *et al*, 1970; BEATO, 1996; CASTRO, 1968; FERREIRA & CASTRO, 1968; FOSTER, 1993; ISSA *et al* 1984; MAGALHÃES, 1945; MENDES *et al*, 1968; COMIG/CPRM, 1999; COMIG 2002; TORRES, 1996).

3.10 Determinação da composição do *Fango*

Torna-se importante caracterizar o *Fango* sob duas perspectivas: (i) avaliar a composição geoquímica e mineralógica que garantem o efeito terapêutico e cosmético; e (ii) garantir a segurança de uso em função de seu contato com a pele, verificando a presença de microrganismos patogênicos, metais pesados e parasitas.

Para a realização das referidas análises, inicialmente deve-se padronizar a técnica de coleta do *Fango*, para que suas características sejam preservadas. A amostra deve ser representativa e evitar a contaminação cruzada, que originaria resultados falso-positivos da presença de microrganismos.

3.11 Coleta do *Fango* em Araxá

Na agropecuária existe a preocupação de caracterizar os solos inorgânicos, pois são os mais utilizados para plantio. Os solos orgânicos passaram a ter maior destaque e interesse científico, pois, além de terem ações terapêuticas, conhecidas pela maturação do solo orgânico (*Turfa*/húmus), e, recentemente, pelo desenvolvimento de diversas técnicas

como o “plantio orgânico” e biotecnologia utilizam como fonte de carbono os compostos orgânicos presentes no mesmo (CARDOSO, 2004).

Tendo em vista a carência da literatura científica de informações sobre a metodologia correta de coleta do *Fango* para a análise, foram utilizados neste trabalho como fonte de pesquisa artigos científicos envolvendo a análise de solos, correlacionando-os com os aspectos necessários para a elaboração de produtos cosméticos, a fim de obter eficácia e segurança destes últimos.

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2006), a microfauna do solo varia muito de acordo com a profundidade, sendo que os microrganismos estão presentes em maior número na camada superficial. Por isso, foi realizada a coleta da amostra na camada superficial (0 -20 cm de profundidade).

O material coletado deve ser armazenado em sacos de plásticos estéreis, a 4 °C, a fim de preservar o material biológico presente (IAC, 2005) em cada ponto de coleta, sendo a quantidade mínima 500 g de solo por amostra. (IAC, 2007)

Após a coleta, o material deve ser encaminhado ao laboratório e fracionado em porções correspondentes para cada análise.

A análise microbiológica deverá ocorrer no período máximo de até 24 h após a coleta do material. Para as demais análises, as amostras podem ser acondicionadas em *freezer*.

3.12 Análise granulométrica

A granulometria das partículas envolve o tipo de análise quando do desenvolvimento e manutenção da estabilidade de produtos cosméticos. O *Fango*, como descrito anteriormente, envolve a mistura maturada de água, *Turfa* (solo orgânico), argila e sol. Considerando as diferenças entre uma e outra região geográfica, pode-se observar variação muito grande no que se refere à composição do solo, o que influenciará na determinação das características do *Fango* (BRADY, 1989).

A análise granulométrica fornece informações importantes quanto ao tamanho e caracterização das partículas presentes como, por exemplo, argila, silte, areia fina, areia grossa e outras (BRADY, 1989^b; MELO, 2004).

O termo granulometria relaciona-se com a “medida de tamanho das partículas”. Certos materiais, minerais ou não, apresentam-se, natural ou artificialmente, sob a forma de partículas ou grãos. A distribuição quantitativa granulométrica desses materiais é uma das suas propriedades físicas fundamentais (BRADY, 1989^b)

Existem três operações distintas relacionadas com as análises granulométricas. Primeiramente, é necessário obter a distribuição quantitativa do tamanho das partículas. Para isso existem inúmeras técnicas disponíveis. Em segundo lugar, os valores obtidos são transformados e apresentados sob forma de gráficos e diagramas. Em terceiro lugar, avaliam-se inúmeros parâmetros (atributos estatísticos da distribuição granulométrica) para a descrição dos sedimentos e comparação com outros materiais particulados entre si (SUGUIO, 1973).

Com frequência é utilizada para a determinação da granulometria do solo a escala ϕ (fi), que utiliza um artifício matemático para simplificar a representação numérica das classes granulométricas. A escala ϕ (fi) é definida de acordo com a **Equação 1**:

Equação 1 – Escala granulométrica ϕ

$$\phi = -\log_2 d$$

onde d = diâmetro das partículas de sedimento (mm)

Aplicando-se a **Equação 1**, obtém-se a seguinte relação entre o diâmetro e a escala ϕ , apresentado a seguir no **Quadro 3**

Quadro 3 – Relação entre medida do diâmetro (mm) e a escala ϕ (MELO, 2004)

Fração*1	mm	ϕ
Seixo	4,0	-2
Grânulo	2,0	-1
Areia muito grossa	1,0	0
Areia grossa	0,5	1
Areia média	0,250	2
Areia fina	0,125	3
Areia muito fina	0,062	4
Silte muito grosso	0,031	5
Silte grosso	0,016	6
Silte médio	0,008	7
Silte fino	0,004	8
Argila	<0,004	>8

*Considerar o valor de diâmetro como limite inferior da fração.

3.12.1 Aplicação das análises granulométricas

As aplicações das análises granulométricas variam de acordo com o campo de atividades no qual são empregadas, como mencionadas a seguir:

(MELO, 2004)

a) *Geologia acadêmica*

- caracterizar e classificar os sedimentos com o mínimo de subjetividade;
- correlacionar sedimentos de áreas diferentes por meio de tratamentos estatísticos adequados;
- estimar permeabilidade e porosidade dos sedimentos;
- indicar a área-fonte, transporte e condições deposicionais nos casos de sedimentos clásticos (detríticos);
- preparar os sedimentos para outros tipos de estudos, tais como mineralogia de pesados, textura superficial dos grãos, estudo de argilominerais etc.

b) *Geologia aplicada à Engenharia Civil*

- caracterizar e classificar os tipos de solo, permitindo prever certos comportamentos frente aos esforços e solicitações;
- correlacionar os tipos de solo.

c) *Pedologia*

- caracterizar e classificar os tipos de solo, permitindo prever certos comportamentos frente aos problemas relacionados com a Agronomia;
- correlacionar os tipos de solo.

d) *Indústria*

- dimensionar a granulometria necessária de materiais que constituem as matérias-primas usadas na fabricação de vidro, concreto, quartzo para fundente etc.;
- dimensionar e controlar a granulometria necessária para que ocorra o máximo de liberação de determinado mineral a partir de agregados.

3.12.2 Tipos de análise granulométrica

A análise granulométrica pode ser realizada de três formas distintas: pipetagem; tamisação e à *laser*.

a) *Análise granulométrica por pipetagem*

A análise granulométrica por pipetagem tem por objetivo classificar as partículas menores que 0,062 mm (silte e argila), baseando-se no seu tempo de decantação em meio fluido, aplicando a Lei de Stokes. Neste método, a forma mais utilizada é a Pipeta de Andreasen (**Figura 8**).

Figura 8 – Esquema do funcionamento da pipeta de Andreasen (BEHERE & HALIALIS, 1945; Da LUZ, 1987)

Na composição desse dispositivo, temos um recipiente superior, graduado e aferido para coletar 10 mL, ligado a uma rolha especial de vidro, com dois orifícios, que permitem a ligação do recipiente a um tubo de vidro de saída. Este é mergulhado na proveta que contém o sedimento até que a extremidade se localize a uma profundidade pré-determinada, função da fração

granulométrica de maior dimensão. Realiza-se a aspiração de uma alíquota com volume desejado, que é recolhida em uma cápsula de porcelana previamente pesada (SUGUIO, 1973).

A cápsula é posteriormente colocada na estufa, à temperatura controlada até completa evaporação da água. A diferença de pesos entre a cápsula vazia e com material fornece diretamente o peso dessa fração granulométrica. Em função da morosidade do procedimento utilizam-se freqüentemente baterias de provetas que permitem efetuar, simultaneamente, a análise granulométrica de várias amostras (SUGUIO, 1973).

A alíquota coletada da suspensão no tempo t_0 contém partículas de diversas dimensões. No tempo t_1 não contém as partículas maiores (entre 4ϕ e 5ϕ se a pipetagem for de ϕ em ϕ – ver **Quadro 3**) e, conseqüentemente, possuem maior velocidade de sedimentação, pois mesmo aquelas que se encontravam junto à superfície foram deslocadas para o fundo, localizando-se abaixo da profundidade de colheita. A diferença entre os valores de pesagem fornece o peso da fração 5ϕ (isto é, com partículas entre 4ϕ a 5ϕ) (SUGUIO, 1973).

b) Análise granulométrica por tamisação

Este é o método mais divulgado para efetuar a análise granulométrica de sedimentos grosseiros (areia e pedra). O tamis (peneira) para este tipo de análise sedimentológica consiste num suporte metálico (latão, alumínio, inox etc.) cilíndrico que serve de suporte para uma malha de orifícios do mesmo tamanho (calibrado), geralmente metálica, mas que pode ser plástica (**Figura 9**).

Figura 9. Fotografia de Tamis utilizado na análise granulométrica, com malha de 62 μ m.

Os tamises têm capacidade de serem encaixados uns nos outros, formando uma coluna de tamização. Na parte superior dessa coluna existe uma tampa para evitar perdas de material durante o processo, e na base encaixa-se um tamiz “cego”, denominado “pan”, destinado a receber as partículas menores que atravessaram toda a coluna e não ficaram retidos em nenhum dos tamises (GIANINNI, 2004).

Normalmente, efetua-se a tamização a seco, mas em algumas aplicações especiais o processo pode ser a úmido.

A coluna de tamização é agitada por um aparelho vibratório, designado de “agitador de tamises” (**Figura 10**), fornecendo ao conjunto movimentos de alta frequência que viabilizam a tamização de partículas.

Figura 10. Fotografia do agitador de tamises e coluna de tamisação

3.13 Análise microbiológica

As concentrações microbianas podem ser avaliadas pela concentração celular, ou seja, o número de células viáveis por unidade de volume de cultura, ou de concentração de biomassa, ou seja, o peso seco das células por unidade de volume de cultura (MORSE, S.A., 2000 ^a).

Tais parâmetros nem sempre se equivalem, pois o peso seco médio da célula varia em diferentes estágios de uma cultura. Em estudos de genética microbiana ou de inativação de células, a concentração celular constitui um fator significativo; por outro lado, em estudos bioquímicos ou de nutrição microbiana, a concentração de biomassa passa a constituir o fator mais importante (MORSE, 2000 ^a).

a) **Concentração celular**

Um exemplo da contagem de células viáveis é comumente a medida de concentração celular, apresentado no **Quadro 4**. Todavia, para muitos propósitos, a turvação de uma cultura, medida por métodos fotoelétricos, pode estar relacionada com a contagem viável, na forma de curva padrão.

Ao utilizar medidas turbidimétricas, é preciso lembrar que a correlação entre turvação e a contagem de células viáveis pode variar durante o crescimento e a morte de uma cultura; as células podem perder a viabilidade sem produzir perda na turvação da cultura (MORSE, 2000 ^a).

Quadro 4 - Exemplo de contagem viável (MORSE, 2000 ^a).

Diluição	Contagem na placa*
Não diluído	Muito numeroso para contar
10^{-1}	Muito numeroso para contar
10^{-2}	510
10^{-3}	72
10^{-4}	6
10^{-5}	1

* Cada contagem é a média de três placas replicadas

b) Densidade da biomassa

A biomassa pode ser avaliada determinando-se diretamente o peso seco de uma cultura microbiana, após sua lavagem com água destilada. Neste procedimento é realizada uma curva padrão que correlaciona o peso seco com a turvação. Como alternativa pode-se obter uma estimativa indireta da concentração de biomassa ao medir um componente celular importante, como proteína, ou ao determinar o volume ocupado pelas células que sedimentaram na suspensão (MORSE, 2000 ^a).

3.13.1 Contagem de microrganismos viáveis

A seguir estão descritos alguns procedimentos utilizados para a contagem em microrganismos viáveis.

a) Meio de cultura

A técnica utilizada e o tipo do meio de cultura selecionado, depende da natureza da investigação. Habitualmente, podem ser encontradas três situações: (1) necessidade de cultivar um grupo de células de uma espécie particular disponível; (2) precisar determinar o número e os tipos de microrganismos presentes em determinado material; ou (3) desejar isolar um determinado tipo de organismo de uma fonte natural (MORSE, 2000^b).

b) Contagem de microrganismos viáveis totais

De acordo com a Farmacopéia Brasileira 1998, a metodologia de contagem de microrganismos viáveis é capaz de determinar o número total de bactérias e fungos presentes em produtos e matérias-primas não estéreis. A determinação pode ser efetuada por meio do método de filtração por membrana, método de contagem em placa ou métodos dos tubos múltiplos, descritos a seguir:

I) Filtração por membrana

Neste método emprega-se uma membrana de nitrato de celulose ou acetato de celulose, com porosidade não superior a 0,45µm.

II) Contagem em placas

a) Para a contagem de bactérias empregam-se placas de Petri, onde se adiciona a amostra em Meio de Ágar Caseína-Soja liquefeito, ou alternativamente, dispersa-se a mistura na superfície do meio solidificado na

placa. Neste método, as amostras devem ser diluídas de forma que o número de colônias não ultrapasse 300 por placa. As placas são incubadas a 30-35 °C, durante 4 dias. Contam-se as colônias com crescimento nas placas e calcula-se o resultado verificando aquelas com o maior número de colônias.

b) Para a contagem de fungos, adiciona-se a amostra em Meio Ágar Sabouraud-Dextrose liquefeita a 45 °C, ou, alternativamente, dispersa-se a mistura de amostras na superfície do meio solidificado na placa. A amostra é diluída de maneira que o número de colônias não ultrapasse 100 por placa. Incuba-se a 20-25 °C, por 7 dias. Contam o número de colônias desenvolvidas e considerar as placas com o maior número de colônias.

III) Tubos múltiplos

Este método é utilizado quando se espera que o produto apresente densidade bacteriana baixa. Deve ser mantida a razão entre o volume da amostra o do meio de cultura a utilizar.

As amostras são inicialmente diluídas na proporção de 1:10, por meio dos seguintes procedimentos:

- a) Amostras sólidas – Misturar 10 g da amostra com 90 ml de diluente. Se forem necessários volumes maiores, 25 g para 225 ml, respectivamente.
- b) Amostras líquidas – Misturar 1 ml da amostra com 9 ml de Caldo Caseína-Soja ou este adicionado de substâncias emulsificantes ou neutralizantes (polissorbato, lecitina de soja, dentre outros). Preparar diluições 1:100 e 1:1000, a partir da diluição 1:10.

Empregam-se uma série de doze tubos, contendo 10 ml de caldo caseína-soja. Adiciona-se 1 ml da amostra diluída, dissolvida ou homogeneizada, na proporção de 1:10, 1:100 e 1:1000 da amostra em triplicata. Aos três últimos tubos, adicionar 1 ml do diluente. Incubar os tubos a 30-35° C, por 4 dias. Os últimos tubos não devem apresentar crescimento microbiano. Anotar como positivos os tubos que apresentarem crescimento de microrganismos.

c) Formação de produtos finais de metabolismo (gás, ácido, base etc.) ou pelo exame microscópico direto.

No caso de amostras que turvem o meio, a confirmação dos tubos positivos para o crescimento de microrganismo é realizada transferindo uma alçada de cada tubo para outro, contendo caldo de caseína-soja ou meio equivalente, ou semeando em meios sólidos, seletivos ou não e incubando por período adicional. Determina-se o Número Mais Provável (NMP) de microrganismos por g ou ml, conforme apresentado no **Quadro 4**. Sendo necessária maior precisão no teste, pode-se empregar 5 tubos por diluição, avaliando o Número Mais Provável, conforme apresentado no **Quadro 5**. (FARMACOPÉIA Brasileira, 1998).

Quadro 5 – Número mais provável (NMP) e limites de confiança 95% em três diluições diferentes em triplicata (FARMACOPÉIA Brasileira, 1998)

Número de tubos cujo crescimento é visível para cada quantidade do produto sob exame			Número Mais Provável de micror. ganismos por g ou ml	Limite NMP	
100 mg ou 0,1 ml/ tubo	10 mg ou 0,01 ml/ tubo	1 mg ou 0,001 ml/ tubo		Inferior	Superior
0	0	0	< 3	—	—
0	0	1	3	<0.5	9
0	1	0	3	<0.5	13
1	0	0	4	0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1.100	50	4800
3	3	3	> 2.400	—	—

Quadro 6 – Índice do número mais provável e limites de confiança de 95% em três diluições diferentes em quintuplicata (FARMACOPÉIA Brasileira, 1998)

Número de tubos com reação positiva quando são utilizados, em séries de 5 tubos, inóculos de 10,0 mL, 1,0 mL e 0,1 mL			Índice de NMP (100 mL)	Limites de Confiança de 95%	
10 mL	1 mL	0,1 mL		Inferior	Superior
0	0	0	< 2	-	-
0	0	1	2	< 1	10
0	1	0	2	< 1	10
0	2	0	4	< 1	13
1	0	0	2	< 1	11
1	0	1	4	1	15
1	1	0	4	1	15
1	1	1	6	2	18
1	2	0	6	2	18
2	0	0	4	1	17
2	0	1	7	2	20
2	1	0	7	2	21
2	1	1	9	3	24
2	2	0	9	3	25
2	3	0	12	5	29
3	0	0	8	3	24
3	0	1	11	4	29
3	1	0	11	4	25
3	1	1	14	6	35
3	2	0	14	6	35
3	2	1	17	7	40
4	0	0	13	5	38
4	0	1	17	7	45
4	1	0	17	7	46
4	1	1	21	9	55
4	1	2	26	12	63
4	2	0	22	9	56
4	2	1	26	12	65
4	3	0	27	12	67
4	3	1	33	15	77
4	4	0	34	16	80
5	0	0	23	9	86
5	0	1	30	10	110
5	0	2	40	20	140
5	1	0	30	10	120
5	1	2	60	30	180
5	2	0	50	20	170
5	2	1	70	30	210
5	2	2	90	40	250
5	3	0	80	30	250
5	3	1	110	40	300
5	3	2	140	60	360
5	3	3	170	80	410
5	4	0	1307	50	390
5	4	1	170	70	480
5	4	2	220	100	580
5	4	3	280	120	690
5	4	4	350	160	820
5	5	0	240	100	940
5	5	1	300	100	1300
5	5	2	500	200	2000
5	5	3	900	300	2900
5	5	4	1600	600	5300
5	5	5	1600	-	-

3.13.2 Pesquisa de microrganismos no Fango

A pele intacta representa uma barreira eficiente contra infecções, no entanto quando lesada, aumenta consideravelmente as chances de infecções secundárias. Para preparações tópicas, experiências em voluntários têm demonstrado que inóculos da ordem de 10^6 são necessários para a produção de secreção purulenta, mas apenas 10^2 são suficientes quando a pele apresenta lesão ou sob oclusão (PINTO et al, 2003).

O Fango, por se tratar de um produto de origem natural com quantidade abundante de água e solo orgânico (Turfa), pode conter, antes do processo de esterilização, carga microbiana elevada. Microrganismos Gram negativos (Gram⁻) originados da contaminação aquosa incluem espécies de *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* e *Pseudomonas*, e os de origem entérica como a *Escherichia coli* e *Salmonella* spp, que podem sobreviver por algum período na água poluída. A *Pseudomonas aeruginosa* é um organismo de vida livre, que pode estar presente na flora normal em aproximadamente 4 – 6% da população, causa rápida infecção em feridas e queimaduras (PINTO et al, 2003).

De acordo com a German Health Resorts Association, o *peloid* é classificado como um novo sistema genético-geológico e os mesmos ressaltam a importância da pesquisa dos microrganismos patogênicos.

A legislação brasileira que estabelece os parâmetro de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes é a Resolução ANVS N.º 481, de 23/9/99 onde não é permitido a presença de microrganismos patogênicos e o limite máximo de Unidade Formadora de

Colônias por grama/mililitros de produto é 5×10^{-3} . (BRASIL. Resolução R.E n. 481, de 23 de setembro de 1999).

Para a contagem de bactérias e fungos totais das amostras coletadas em Araxá-MG foi utilizado o método do NMP - Número Mais Provável pelo plaqueamento em gotas. Este método é o mais utilizado nos laboratórios de análise de solos, pois otimiza tempo e material (JAHNEL et al., 1999).

Neste ensaio, as diluições são transferidas para a placa de petri na forma de gota **Figura 11.** e, após o período de incubação, são observadas as Unidades Formadoras de Colônias nas gotas, a partir das quais, com auxílio da Tabela de Mc Crady (**Tabela 1**) calcula-se o Número Mais Provável (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994).

Figura 11. Esquema do plaqueamento em gotas

Tabela 1 – Tabela de Mc Crady – Número Mais Provável de microrganismos para 5 repetições (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994).

Número característico	Número bactérias	Número característico	Número bactérias	Número característico	Número bactérias	Número característico	Número bactérias
000	0,0	203	1,2	400	1,3	513	8,5
001	0,2	210	0,7	401	1,7	520	5,0
002	0,4	211	0,9	402	2,0	521	7,0
010	0,2	212	1,2	403	2,5	522	9,5
011	0,4	220	0,9	410	1,7	523	12,0
012	0,6	221	1,2	411	2,0	524	15,0
020	0,4	222	1,4	412	2,5	525	17,5
021	0,6	230	1,2	420	2,0	530	8,0
030	0,6	231	1,4	421	2,5	531	11,0
100	0,2	240	1,4	422	3,0	532	14,0
101	0,4	300	0,8	430	2,5	533	17,5
102	0,6	301	1,1	431	3,0	534	20,0
103	0,8	302	1,4	432	4,0	535	25,0
110	0,4	310	1,1	440	3,5	540	13,0
111	0,6	311	1,4	441	4,0	541	17,0
112	0,8	312	1,7	450	4,0	542	25,0
120	0,6	313	2,0	451	5,0	543	30,0
121	0,8	320	1,4	500	2,5	544	35,0
122	1,0	321	1,7	501	3,0	545	45,0
130	0,8	322	2,0	502	4,0	550	25,0
131	1,0	330	1,7	503	6,0	551	35,0
140	1,1	331	2,0	504	7,5	552	60,0
200	0,5	340	2,0	510	3,5	553	90,0
201	0,7	341	2,5	511	4,5	554	160,0
202	0,9	350	2,5	512	6,0	555	180,0

Além da contagem de bactérias totais e fungos foi realizada a pesquisa dos seguintes microrganismos patogênicos: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp* e *Escherichia coli*, pois segundo a legislação brasileira é proibido a presença destes microrganismos em cosméticos (BRASIL, **Resolução R.E n. 481**, de 23 de setembro de 1999).

Na pesquisa de microrganismos também é importante a pesquisa das bactérias celulolíticas, diazotróficas e amonificadoras, pois as mesmas têm um papel significativo na obtenção da matéria orgânica.

A literatura científica cita como exemplo de meio de cultura para a pesquisa de bactérias amonificadoras o método sugerido por Andrade et al 1994, modificada quanto ao meio de cultura utilizado, com a seguinte composição: 1000 mL de água destilada; 0,5 g de K_2PO_4 ; 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 10 g de NaCl; 0,2 g asparagina; 0,2 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,025 mg $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, 2,86 mg H_3BO_3 e 5 mg de Fe-EDTA. A presença de amônia foi identificada pela formação de cor marrom aveludada, quando adicionado o reagente de Nessler. A partir dos resultados obtidos em cada uma das diluições e com auxílio de uma tabela de probabilidade de ocorrência tabela de Cochran (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994), estimou-se o (NMP) de microrganismos amonificadores.

Para a pesquisa de bactérias celulolíticas foi adotado o seguinte metodologia: após o crescimento das bactérias descritos na etapa do plaqueamento em gotas, foram isoladas as colônias. A atividade celulolítica destas foi avaliada pelo método de HENDRICKS et al. 1995, utilizando como substrato a celulose microcristalina e a carboximetilcelulose.

A pesquisa das bactérias diazotróficas foi realizada com a utilização do meio específico semi-sólido JMV e JNFb. O meio JMV tem a seguinte composição por litro: 5 g Manitol; 0,6 g KH_2PO_4 ; 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1 g NaCl; 0,2 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$; 2,0 ml azul de bromotimol (solução 0,5% em 0,2N KOH); 2,0 ml solução de micronutrientes (0,04 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 1,2 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 1,4 g H_3BO_3 ; 1,0 g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 1,175 g $MnSO_4 \cdot H_2O$); 1,0 ml

solução de vitaminas (100 mg biotina; 200 mg piridoxol-HCl); 4,0 ml Fe-EDTA (solução 1,64%). O pH é ajustado para a faixa de 4,0 a 4,5 e adiciona-se 2,5 g de ágar (variável, de acordo com a marca do ágar) no caso do preparo de meio semi-sólido ou 20 g de ágar e 50 mg de extrato de levedura para o preparo do meio sólido. O meio JNFb semi-sólido tem a seguinte composição por litro: 5,0 g ácido málico; 0,6 g K_2HPO_4 ; 1,8 g KH_2PO_4 ; 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1 g NaCl; 0,02 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$; 2 ml solução de micronutrientes (vide JMV); 2 ml azul de bromotimol (solução 0,5% em 0,2N KOH); 4 ml FeEDTA (sol 1,64%); 1 ml solução de vitaminas (vide JMV). O pH é ajustado para 5,8 com KOH e adiciona-se 1,8 g de ágar (variável com a marca do ágar) no caso de meio semi-sólido. Para meio sólido acrescentou-se 16,0 g de ágar, 20,0 mg de extrato de levedura e 6 ml de azul de bromotimol (DOBEREINER et al, 1995).

As bactérias diazotróficas foram identificadas por meio de avaliações microscópicas, culturais e testes bioquímicos dos sistemas API 20-E e API 20-NR. O conteúdo de nitrogênio foi determinado colorimetricamente, após oito dias de incubação das bactérias a 32 °C, para estimar a capacidade de fixação biológica dos isolados (DOBEREINER et al, 1995).

Na avaliação microbiológica também é importante a análise respirométrica, que realiza a quantificação do gás carbônico (CO_2) desprendido de amostras de solo, utilizando um equipamento, o respirômetro (**Figura 12**), que avalia a atividade microbiológica do solo, bem como a determinação de taxas de decomposição de materiais orgânicos, permitindo obter informações sobre o comportamento de materiais orgânicos no solo, em curto intervalo de tempo (CERRI et al, 1994).

A quantificação do gás carbônico (CO_2) desprendido de amostras de solo, incubadas com materiais orgânicos (em laboratório), dentro de respirômetro, é utilizada para a avaliação da atividade microbiológica do solo, incluindo o cálculo de biomassa microbiana (SPARLING, 1992), bem como para a determinação das taxas de decomposição de materiais adicionados. Além disso, estes estudos permitem obter informações sobre o comportamento de materiais orgânicos no solo, em intervalo de tempo reduzido (CERRI et al, 1994).

Esta metodologia pode ser tanto utilizada para a avaliação do consumo de oxigênio (O_2) quanto pela produção de CO_2 , sendo esta última mais usada para a medida da decomposição de compostos orgânicos no solo (DOELMAN & HAANSTRA, 1984).

O O_2 pode ser fornecido sem fluxo de ar, com retenção passiva de CO_2 , e com fluxo de ar, contínuo ou intermitente, pelo sistema denominado de aeração forçada. O primeiro processo é de simples utilização, principalmente quando se tem um grande número de tratamentos envolvidos, porém pode se tornar limitante em ensaios prolongados (CALDEIRA, 1997).

O CO_2 liberado no sistema é captado, normalmente, por uma solução alcalina de hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, de modo a estabelecer um sistema de equilíbrio ácido-base, no qual predominam íons OH^- e CO_3^{2-} . A quantificação desse CO_2 , em geral, é efetuada por meio de titulação com solução padrão ácida, após a precipitação do íon carbonato presente. Também podem ser utilizados métodos instrumentais como a espectrofotometria de infravermelho ou cromatografia gasosa (RODELLA, 1996).

Diversos autores (ANDERSON & DOMSCH, 1990; WOLTERS & JOERGENSEN, 1991; HASSINK, 1993) têm usado a velocidade de produção de CO₂ (atividade respiratória) e a biomassa, para o melhor entendimento das funções da população decompositora e sua relação com as condições ambientais. Dessa forma, o grau de funcionamento da microbiota pode ser expresso com base no seu nível de respiração e o efeito de metais pesados nesse processo pode ser avaliado pela mudança ocorrida, quando comparado com um solo controle (DOELMAN & HAANSTRA, 1984).

De acordo com Chander & Brookes ,1991, 1993 estes parâmetros podem ser usualmente indicadores das mudanças nas condições do solo devido à poluição química.

Figura 12. Esquema do Respirômetro. Fonte: SCIELO CHILE. Scientific Electronic Library Online. Disponível em <<http://www.scielo.cl/fbpe/img/gbot/v63n1/fig01-02.jpg>>.

3.14. Análise Físico-química

3.14.1 Análise de pH e micronutrientes

O pH do solo foi medido em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, pois pequenas quantidades de sais presentes no solo podem alterar significativamente o valor do pH.

O cálcio e magnésio trocáveis foram extraídos por resina de troca iônica e quantificados por Espectrofotometria de Absorção Atômica de Chama (AAS). O potássio (K^+) trocável e o fósforo (P) foram extraídos pelo sistema, sendo o potássio determinado por fotometria de emissão atômica e a intensidade da cor do fósforo foi quantificada em um colorímetro com solução de ácido ascórbico e molibdato de amônio para dar desenvolvimento da cor (PARKINSON & ALLEN, 1975).

Os micronutrientes: zinco cobre, ferro e manganês foram extraídos pelo dietileno-pentaacético (DTPA) e quantificados por meio de Espectrofotometria de Absorção Atômica de Chama (AAS). O boro (B) foi extraído com cloreto de bário (microondas) e quantificado por espectrofotometria em 420nm (PARKINSON & ALLEN, 1975).

O nitrogênio total do *Fango* foi determinado por digestão com mistura contendo ácido sulfúrico e posterior destilação com hidróxido de sódio, sendo o destilado recolhido em solução de ácido bórico (20g L^{-1}) e posteriormente titulado com ácido sulfúrico $0,05\text{mol L}^{-1}$ (PARKINSON & ALLEN, 1975).

3.15 Análise de metais

Os metais são as toxinas mais antigas conhecidas pelo homem. Hipócrates descreveu em 370 a.C a relação entre fortes dores abdominais em homens que realizavam a extração de metais. Arsênio e mercúrio foram citados por Theophrastus e Erebeus (387-372 a.C) como substâncias maléficas à saúde. (COTRAN et al, 2000)

Aproximadamente 80 dos 105 elementos da tabela periódica são considerados metais, mas menos de 30 apresentam efeitos tóxicos ao homem. Os metais afetam múltiplos órgãos, processos bioquímicos (enzimáticos), membranas celulares e organelas. Os efeitos tóxicos dos metais freqüentemente incluem a relação entre o metal livre e o alvo toxicológico. Existem vários mecanismos de ação tóxica para os efeitos que ocorrem, mas acredita-se que existe uma similaridade no metabolismo dos metais com o dos elementos essenciais. Células que estão envolvidas no transporte de metais, como as gastrintestinais e as do túbulo renal são mais susceptíveis aos efeitos tóxicos (COTRAN et al, 2000).

A exposição aos metais está associada à toxicidade aguda e crônica, bem como a carcinogenicidade, conforme apresentado no **Quadro 7** a seguir:

Quadro 7 Efeitos tóxicos da exposição aos metais (COTRAN et al., 2000).

Metais	Doença
Chumbo	Toxicidade renal, anemia, cólica, neuropatia periférica, insônia, fadiga e déficits cognitivos.
Mercúrio	Toxicidade renal, tremores musculares, demência, paralisia cerebral, retardo mental, câncer de pele, pulmão e fígado.
Arsênico	Câncer de pele, pulmão e fígado.
Berílio	Irritante pulmonar agudo, hipersensibilidade pulmonar crônica.
Cobalto e Tungstênio	Fibrose pulmonar, Asma.
Cádmio	Toxicidade renal
Cromo	Câncer de pulmão e da cavidade nasal
Níquel	Câncer de pulmão e dos seios nasais

Como mencionado anteriormente, traços de metais pesados foram detectados em algumas amostras de *Fango* analisadas. Por essa razão, devemos realizar sua quantificação para avaliar o risco de intoxicação ao aplicar a *Fangoterapia* (SUMMA & TATEO, 1999; CARRETERO, 2002).

De acordo com a regulamentação brasileira, elementos como: arsênio, cádmio, mercúrio, chumbo, antimônio, selênio, tungstênio e titânio, não podem estar presentes em produtos cosméticos, devido ao seu elevado potencial tóxico. A Resolução 48, de 16 de março de 2006, lista algumas substâncias que não podem ser usadas em cosméticos, como os sais de bário, bromo, cádmio, crômio, iodo, chumbo, selênio e tálio.

A determinação de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês, zinco, níquel, cádmio, cromo e chumbo é realizada em ácido nítrico usando o método da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (*United States Environmental Protection Agency - US-EPA*). A técnica utilizada envolve a digestão das amostras, com aquecimento em microondas (SW – método 3051).

Esta técnica é citada como um dos métodos mais recentes para obtenção da dissolução das amostras de solo. As vantagens dessa técnica são as seguintes: menor tempo de digestão, melhor controle das contaminações, dissolução mais completa das amostras e menor perda dos elementos voláteis (QUAGGIO & RAIJ, 2001).

Após a digestão da amostra os metais são determinados pelo espectrofotômetro ICP-AES (Espectrofotometria de emissão atômica por plasma).

3.16 Análises organolépticas do *Fango*

Esta análise procura avaliar características inerentes ao produto tais como aparência, cor e odor. (FERREIRA, 2002). Os resultados encontrados durante o ensaio podem revelar indícios de que houve alteração do produto, seja pela presença de elementos estranhos durante o processo de fabricação ou pela utilização de matéria-prima de baixa qualidade para fabricação do *Fango*.

O *Fango* de Araxá apresenta água sulfurosa, o que lhe confere odor de enxofre e também, argila e *Turfa*. A presença da argila e da *Turfa* confere ao *Fango* grânulos arenosos, que tem toque áspero quando aplicados sobre a pele. A *Turfa* é um solo orgânico, preto, devendo ter a referida apresentação.

Visualmente, o *Fango* apresenta-se como uma lama negra, com odor forte de enxofre. A cor negra se deve a precipitação do nitrito e o odor à água sulfurosa (VENIALLE, 1999).

3.17 Análise parasitológica

Não existe na literatura científica metodologia específica para análise parasitológica do *Fango*. Como no processo de obtenção do *Fango* utilizamos solo orgânico, existe a possibilidade deste estar contaminado com larvas de *Ancylostoma duodenale*, que provocam a parasitose conhecida como “bicho geográfico”. A larva deste parasita penetra na pele provocando lesões (**Figura 13**). Como o *Fango* é aplicado diretamente na pele do paciente, deve-se fazer a pesquisa de tal larva. O Método de Baermann modificado é utilizado para a recuperação das Larvas de *Ancylostoma spp* (CARLI, 2001).

Figura 13. Fotografia larva *migrans cutânea*. Fonte: BAYER HEALTH CARE. Disponível em www.bayervet.bayer.pt/export/sites/bayervetpt/pt/_galleries/pics_new/figura_19.jpg.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Matérias-primas

- i. *Fango* de Araxá-MG “*in natura*”- *Fonte Andrade Júnior*
- ii. *Turfa* Pura de Araxá-MG
- iii. *Fango* de Araxá-MG em processo de maturação
- iv. *Fango* de Araxá-MG maturado

4.1.2 Reagentes (Grau de pureza analítico) e Meios de Cultura

Reagentes

- i. Acetato de amônio (LabSynth)
- ii. Ácido clorídrico (LabSynth)
- iii. Ácido nítrico (Merck)
- iv. Água oxigenada 50v (H₂O₂) (LabSynth)
- v. Dicromato de potássio (LabSynth)
- vi. Etanol 96° GL (LabSynth)
- vii. Hidróxido de amônio (LabSynth)
- viii. Pirofosfato de sódio (LabSynth)

Meios de cultura

- i. Ágar cetrimida, DIFCO
- ii. Ágar MacConkey, DIFCO
- iii. Ágar Nutriente, DIFCO
- iv. Ágar sulfito-bismuto, DIFCO
- v. Ágar verde-brilhante, DIFCO
- vi. Ágar Vogel-Johnson, DIFCO

- vii Ágar xilitose, lisina e desoxicolato, DIFCO
- viii Caldo caseína-soja, DIFCO
- ix Caldo lactose, DIFCO
- x Caldo selenito-cistina, DIFCO
- xi Caldo tetracionato, DIFCO
- xii Meio Martin com exclusão do corante rosa-bengala, DIFCO

4.1.3 Equipamentos e dispositivos

- Autoclave (Quimis / Q290M22)
 - Agitador de Tamizes (Haver® EML digital Plus)
 - Balança (Gehaka / BG 4000/)
 - Bandeja rotatória de 12 frascos (Produtest, ciclos 50/60, modelo 3963)
 - Banho-Maria - Digital com temperatura regulável de 22 a 100° C, modelo 500D (Nova Ética
 - Capela com Luz Ultra-Violeta – Capela Labiomédica
 - Capela Fluxo Laminar – Quimis Capela de Fluxo Laminar Vertical II B2 E B3 Q216F2-RB
 - Centrífuga (Fanem / Excelsa Baby II 206/BL)
 - Difrátômetro de Raios-X (Siemens / Brunir AXS D5000) acoplado ao *software*
 - Diffrac® Plus versão 7.1 e ao banco de dados Powder Diffraction File
 - Estufa (Fanem M. 002 CB)
 - Estufa bacteriológica para Demanda Bioquímica e (Quimis/ Q-314M292)
 - Espectrofotômetro de Absorção Atômica (Femto/ modelo 432)
- Espectrofotômetro equipado com célula de fluxo de 18 mm de caminho ótico e 300 L de capacidade

- Forno de microondas (CCE/MW 1350 Turn Table) com potência nominal de 800 W
- Lupa (IULContador manual de colónias)
- Peagâmetro (Hanna / 8417)
- Placa de aquecimento com agitação (Quimis/ Q261-22)
- *Freezer* (Slim 200 Cônsul)
- Tamis malha 0,062 a 2 mm
- Termômetro com graduação de 0 a 100 °C
- Papel de filtro quantitativo faixa azul

4.2 Métodos

4.2.1 Coleta, armazenamento e transporte das Amostras de Fango de Araxá-MG.

As amostras do *Fango* foram coletadas horizontalmente na camada superficial (0 – 20 cm de profundidade). Foram selecionados quatro tipos de fontes: *Turfa* pura; Lama sulfurosa Andrade Junior, *Fango* em Maturação; e *Fango* Maturado (antes e após a descontaminação – para análise microbiológica). O material foi retirado três vezes de cada ponto com auxílio da espátula de metal, previamente esterilizada, e transferido diretamente para sacos plásticos de polietileno esterilizados com capacidade aproximada de 500 g.

Foi adotado o uso dos equipamentos de proteção individual, tais como: luva, máscara, touca e avental, para realizar a coleta do material em suas respectivas fontes e em todas as etapas envolvidas no processo analítico.

Utilizou-se em todas as etapas o álcool 70° % p/p para a assepsia e os sacos plásticos e os utensílios auxiliares, tais como: espátula de inox, espátula tipo “pão duro” e concha metálica, foram esterilizados a fim de evitar contaminação da amostra.

As amostras foram transportadas em recipientes térmicos à temperatura de 5 °C com gelo na forma de gel, para seu armazenamento. O material coletado foi fracionado em porções de 50 g (cinquenta gramas) e mantido em *freezer* ($-5,0 \pm 1,0$ °C).

O procedimento de coleta foi adaptado segundo as técnicas de análise do solo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2006).

4.2.2 Análise granulométrica

4.2.2.1 Preparo da amostra

a) Secagem

Todas as amostras coletadas em Araxá-MG foram secas antes de qualquer tratamento, com exceção daquelas em que se pretendia determinar o teor de água e/ou óleo, ou quando a estrutura (*petrofabric*) da amostra analisada poderia ser modificada durante o processo de secagem (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988).

Foi realizada a análise granulométrica para as seguintes amostras: *Turfa Pura*, *Lama Sulfurosa* e *Fango Maturado*.

A temperatura de secagem necessária depende das propriedades do material e do tipo de análise pretendida, sendo que nos sedimentos arenosos a amostra é seca por 12 a 24 h, a 105-110 °C; e nos sedimentos argilosos a temperatura não deve exceder 50-60 °C, para evitar alterações em argilominerais expansivos que possam estar presentes (ex: halloysita, que se desidrata parcialmente a 60 °C) e evitar o endurecimento acelerado da amostra.

De modo geral, o procedimento de secagem está descrito conforme segue (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988): Pesou-se cerca de 150 g da amostra úmida (**Pu**) e fragmentou-se a amostra com lâmina ou espátula, para aumentar a superfície de contato com o ar e acelerar o processo de secagem. A seguir a amostra foi seca a 50 °C, por 12 h e mantida a temperatura ambiente. Pesou-se a amostra seca (**Ps**) e calculou-se o teor de umidade (%), de acordo com a **Equação 2**.

Equação 2. % Tu = [(Pu-Ps) / Pu] x100

Na qual: **Pu** = é o peso da amostra úmida

Ps = é o peso da amostra seca

b) Remoção de matéria orgânica (solos e sedimentos)

O procedimento para remoção de matéria orgânica do *Fango* é descrito a seguir (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988). Pesou-se cerca de 150 g da amostra naturalmente úmida que foi seca conforme descrito no item **a1)** e pesou-se novamente o material após o processo de secagem (**Ps**). Desagregou-se a amostra seca, utilizando gral de porcelana e pistilo de borracha, transferiu-se a amostra para um béquer de 1000 mL e adicionou-se água oxigenada (H₂O₂) 50v, até a amostra seca desagregada ficar totalmente submersa, sobre a placa aquecedora. Aqueceu-se a amostra a 60-70 °C, homogeneizando-a com bastão de vidro e, quando necessário, acrescentou-se H₂O₂ 50v, até terminar a reação com a matéria orgânica, visualizada pela ausência de efervescência. Preencheu-se o béquer até 600 mL com água potável e retiraram-se os materiais orgânicos flutuantes remanescentes, com ajuda de uma pequena peneira. A amostra foi filtrada e lavada com água potável, utilizando o Kitassato. O material filtrado foi seco em estufa a 50 °C, por 12 h, pesado (**Pf**), após atingir a temperatura ambiente, e em seguida calculou-se o teor de matéria orgânica, de acordo com a **Equação 3**.

Equação 3 – $T_{mo}\% = [(P_s - P_f) / P_s] \times 100$

Na qual: **P_s** = é o peso do material seco

P_f = é o peso do material seco após o processo de remoção de matéria orgânica

c) Remoção de carbonato de cálcio em sedimentos

Para a remoção de carbonato de cálcio adotou-se o procedimento descrito por DICKSON, 1965. Pesou-se cerca de 10 g de amostra seca (**P1**), transferiu-se para um béquer de 100 mL e cobriu-se com ácido clorídrico (HCl) 10%. Aqueceu-se a 60-70 °C, mantendo a agitação com “peixinho” magnético, até cessar a reação (efervescência) e este procedimento foi realizado em capela com sistema de exaustão. Filtrou-se e lavou-se a amostra com água destilada, utilizando kitasato conectado a tubulação de vácuo. Secou-se o material filtrado em estufa a 50 °C, por 12 h, pesou-se o material seco (**P2**) e calculou-se o teor de carbonato (%) de acordo com a **Equação 4**.

Equação 4. $T_c = [(P1 - P2) / P1] \times 100\%$ (expresso em porcentagem).

Na qual: **P1** = peso da amostra seca

P2 = peso da amostra seca após reação

d) Remoção de sais solúveis

A remoção de sais solúveis ocorre quando a amostra é lavada repetidas vezes, evitando-se, assim, o tratamento com outros solventes, como, por exemplo, acetato de sódio e ácido acético. Dessa forma, para qualquer tipo

de material, lavagens repetidas tenderão a remover os sais solúveis presentes (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988).

Na preparação das amostras para análise no granulômetro à laser, estão previstas sucessivas lavagens da amostra, até que esta deixe de flocular para depois submetê-las ao processo de centrifugação para obtenção de pasta homogênea. Essas lavagens sucessivas são responsáveis pela remoção dos sais solúveis da amostra (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988).

4.2.2.2 Análise granulométrica de sedimentos pelo método de tamisação

A análise granulométrica por tamisação (peneiramento) é composta por duas fases, uma preliminar elutriação, que consiste na lavagem ou deslamagem da amostra pela remoção dos finos (silte e argila) e outra que é a tamisação propriamente dita. Entre uma e outra ocorre a secagem dos grãos após a elutriação (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988).

a) Elutriação ou deslamagem

Antes do peneiramento, é necessário remover o material fino remanescente, processo realizado durante a elutriação (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988).

Após a coleta das alíquotas do material fino (silte e argila) por meio da pipetagem, o material restante na proveta será utilizado para o processo de tamisação.

O procedimento genérico para a elutriação, a partir dos decantados existentes na proveta após as coletas por pipetagem, consiste nas etapas descritas a seguir. Removeram-se as argilas em suspensão na proveta, com ajuda de sifão com ponta em “U” para evitar sucção de grãos e a suspensão com as argilas, eventualmente, poderá ser coletada em um béquer à parte, para outras análises como na preparação de lâminas para difratometria de raios X.

Colocou-se o material decantado da proveta em elutriador de funil, constituído de funil de 600 ml, suporte, haste e mangueira flexível conectada à torneira de água potável. A transferência do material decantado da proveta para o funil foi realizada com auxílio de pisete com água potável, de modo que não ocorreu nenhuma perda de material. No momento da transferência, o funil estava cheio d’água, mas com a torneira fechada total ou parcialmente. Abriu-se lentamente a torneira para que a pressão da água mantivesse as partículas da amostra dentro do funil, não descendo pela mangueira e nem extravasando. A água que extravasou deveria carregar somente o material em suspensão, que turvou a água. Houve a elutriação até que a água ficasse límpida, indicando que todo material fino em suspensão foi removido. Transferiu-se o material lavado do funil do elutriador para o béquer, com ajuda de pisete. Filtrou-se o material lavado, em papel filtro qualitativo colocado em funil sobre kitassato e após a filtração, dobrou-se cuidadosamente o papel filtro, e secou-se em estufa a 50-60 °C, por um período de 12 a 24 h.

b) Tamisação propriamente dita

A tamisação inicia-se quando o material a ser peneirado, ou seja, o material elutriado, encontra-se devidamente seco. (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988). Preparou-se o conjunto pelo recipiente de base e 11 (onze) peneiras empilhadas com malha decrescente do topo para a base, conforme segue (variação de 0,5 ϕ na escala):

2,000 mm (-1,0 ϕ)

1,410 mm (-0,5 ϕ)

1,000 mm (0 ϕ)

0,707 mm (0,5 ϕ)

0,500 mm (1,0 ϕ)

0,354 mm (1,5 ϕ)

0,250 mm (2,0 ϕ)

0,177 mm (2,5 ϕ)

0,125 mm (3,0 ϕ)

0,088 mm (3,5 ϕ)

0,062 mm (4,0 ϕ)

Despejou-se o material seco do papel filtro no tamis superior (malha mais grossa) e transferiu-se o conjunto de peneiras para o vibrador. Recolheu-se todo o material retido em cada tamis e no recipiente da base em folhas de papel identificados, com o código da amostra e a respectiva fração

granulométrica. O peso do material retido nessa peneira foi determinado pela Equação 5.

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Equação 5. $P_m = (P_1 - P_2)$

Na qual: **P1** = Peso do material seco tamis superior

P2 = Peso retido no tamis inferior

4.2.2.3 Teor de matéria orgânica na Turfa e característica físico-químicas das amostras de Araxá-MG.

A matéria orgânica presente na *Turfa* pode ser determinada pelo procedimento descrito segundo indicações na literatura científica. (FOLK & WARD, 1957; LEWIS & MCCONCHIE, 1994; SUGUIO, 1973; TUCKER, 1988). Pesou-se um béquer de 200 mL (**Pbe**), fragmentou-se cerca de 200 g de amostra com umidade natural e transferiu-se para o béquer, em seguida pesou-se (**P1**). Secou-se o material em estufa a 100 °C, por 12 h e resfriou-se à temperatura ambiente. Pesou-se o béquer com a amostra seca (**P2**) e calculou-se o teor de umidade (**Tu**) de acordo com a **Equação 6**:

Equação 6

$$Tu\% = [(P_1 - P_{be}) - (P_2 - P_{be})] / (P_1 - P_{be}) \times 100$$

Na qual: **P1** = peso da amostra úmida

P2 = peso da amostra seca

Pbe = peso do béquer

Desagregou-se a amostra seca, com auxílio do gral de porcelana e pistilo de borracha, pesou-se cerca de 20 g da amostra seca (**P3**), e transferiu-

se para um béquer de 1000 mL, adicionou-se 300 mL de água oxigenada 50v e deixou-se em repouso por 12 horas à temperatura ambiente. Transferiu-se para a placa aquecedora a 100 °C, homogeneizando a preparação e controlando a reação com adição de água deionizada fria, evitando efervescência exagerada e perda de material. Agitou-se a amostra sobre a placa aquecida por cerca de 10 min completando a reação, quando ainda houve efervescência, retirou-se o béquer da placa aquecida, deixou-se decantar, resfriou-se e sifonou-se a água límpida com cuidado para não arrastar material sobrenadante. Adicionaram-se 50 mL de água oxigenada e repetiu-se os três últimos passos anteriores quantas vezes fosse necessário, até a não ocorrência de efervescência. Completada a reação, deixou-se esfriar a amostra à temperatura ambiente, decantou-se e sifonou-se o excesso de água. Filtrou-se o material restante e lavou-se com água potável utilizando o kitassato. Secou-se o material filtrado em estufa a 50°C, por 12 h. Pesou-se o material seco (**P4**) e calculou-se o teor de matéria orgânica (**Tmot**), de acordo com a **Equação 7**.

Equação 7. $T_{mot} = [(P3 - P4) / P3] \times 100\%$

Na qual: **P3** = peso da amostra seca

P4 = peso da amostra após a reação

As análises físico-químicas seguiram os modelos padrões preconizados por QUAGGIO J.A. & RAIJ. 2001, e são assinalados resumidamente a seguir: o pH do solo foi medido em solução de CaCl₂ 0,01 mol/L. O cálcio e magnésio trocáveis foram extraídos por resina de troca iônica e quantificados por Espectrofotometria de Absorção Atômica de Chama (EAAC). O potássio (K⁺) trocável e o fósforo (P) foram extraídos pelo sistema, sendo o potássio

determinado por fotometria de chama e a intensidade da cor do fósforo foi quantificada em um colorímetro com solução de ácido ascórbico e molibdato de amônio para dar desenvolvimento da cor (PARKINSON & ALLEN, 1975).

Os micronutrientes: zinco, cobre, ferro e manganês foram extraídos pelo dietileno-pentaacético (DTPA) e quantificados por meio de EAAC. O boro (B) foi extraído com cloreto de bário (microondas) e quantificado por espectrofotometria em 420 nm (PARKINSON & ALLEN, 1975).

O nitrogênio total do *Fango* foi determinado por digestão com mistura contendo ácido sulfúrico e posterior destilação com hidróxido de sódio, sendo o destilado recolhido em solução de ácido bórico (20 g/L) e posteriormente titulado com ácido sulfúrico 0,05 mol/L (PARKINSON & ALLEN, 1975).

4.2.3 Análise microbiológica

4.2.3.1 Determinação do número mais provável de microrganismos pelo método de plaqueamento em gotas

A contagem de bactérias e fungos nas amostras coletadas em Araxá-MG: *Turfa Pura*, *Lama Sulfurosa*, *Fango em Maturação* e *Fango Maturado*, foi determinada pelo Número Mais Provável (NMP) de microrganismos do solo, utilizando a técnica de plaqueamento em gotas de meio de cultura ágarizado sobre placa de Petri, conforme apresentado na **Figura 12** (Esquema do plaqueamento de gotas) (JAHNEL et al.,1999).

Para o preparo das diluições para determinar a contagem de bactérias e fungos, primeiramente foi obtida uma suspensão em frasco Erlenmeyer com 10g das amostras coletadas em Araxá-MG em 90,0 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,85% p/v, homogenizando-se.

As diluições foram realizadas, transferindo-se, com o auxílio de uma micropipeta, alíquotas de 0,1mL da suspensão, previamente preparada para tubos de ensaio contendo 0,9mL de meio de cultura agarizado, totalizando 1,0 ml. Estes foram mantidos em banho-maria a $45,0 \pm 2,0$ °C, até o momento do plaqueamento. Foram realizadas as seguintes diluições sucessivas: de 10^{-1} a 10^{-2} para fungos e 10^{-3} a 10^{-7} para bactérias (JAHNEL et al.,1999).

O plaqueamento do meio de cultura agarizado foi realizado em câmara de fluxo laminar, com a distribuição de cinco gotas, de cada diluição, com volume de 0,04 mL para a superfície de placas de Petri esterilizadas.

As placas foram vedadas e incubadas em estufa para D.B.O (Demanda Bioquímica de Oxigênio) à temperatura de $28,0 \pm 2,0$ °C, por período de 48 horas. Após este, foi contado o número de gotas que apresentavam

crescimento microbiano (turbacão) em cada uma das diluições e pôde-se estimar o Número Mais Provável (NMP) de microrganismos, com o auxílio de uma tabela de probabilidade de ocorrência (Tabela de Mc Crady), **Quadro 7**.

4.2.3.2 Pesquisa de microrganismos patogênicos

Foram realizadas as pesquisas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, no Fango Maturado, utilizando meios específicos e seletivos para cada microrganismo (PINTO et al, 2003).

1ª Etapa Enriquecimento em meios de cultura não seletivos

Aproximadamente 10g das amostras foram transferidas para o Erlenmeyer contendo 90mL de caldo lactose, para a pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella sp.*, com incubação em estufa a $32,5 \pm 2,5$ °C, por 24 a 48h. O mesmo procedimento foi utilizado empregando-se como meio de enriquecimento não seletivo o caldo de caseína-soja, para a pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

2ª Etapa Enriquecimento em meio seletivo para a pesquisa de *Salmonella sp*

Após o período de incubação no meio de cultura descrito acima, alíquotas de 1mL da suspensão resultante do meio de enriquecimento não seletivo (caldo lactose) foram transferidos, respectivamente, para 10 mL dos meios seletivos: caldo tetrationato e caldo selenito cistina, com incubação a $32,5 \pm 2,5$ °C por 12 a 24 h.

Embora não tenha havido crescimento de microrganismos na etapa anterior, descreveremos a seguir a metodologia para a pesquisa de microrganismos em meios seletivos.

3ª Etapa Isolamento em meio seletivo

O crescimento obtido no caldo caseína-soja foi transferido, com auxílio de alça de Henle, para placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura seletivo ágar Vogel-Johnson para o isolamento de *Staphylococcus aureus*, utilizando a técnica de semeadura em estria em superfície. A incubação foi por intervalo de tempo entre 24 a 48 horas a $32,5 \pm 2,5$ °C. Caso houvesse o crescimento de colônias pretas, circundadas por uma zona amarela, seria indicativo de resultado positivo.

Para o isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*, foi transferida uma alçada do caldo caseína-soja para a placa de Petri contendo 20 mL de ágar cetrimida, empregando-se a técnica de semeadura em estria em superfície. A incubação foi por intervalo de tempo entre 24 a 48 h a $32,5 \pm 2,5$ °C. Caso tivesse sido verificada a presença de colônias esverdeadas e fluorescentes sob luz ultravioleta, estas seriam indicativas de resultado positivo.

Foram repicadas as colônias isoladas do ágar cetrimida, para placas de Petri contendo ágar para detecção de piocinanina e ainda para a placa de Petri contendo ágar para detecção de fluoresceína. Após incubação a $32,5 \pm 2,5$ °C por 24 a 48 h. Caso tivessem sido verificadas colônias esverdeadas à vista desarmada e azuis sob luz ultravioleta, em cada um dos meios de cultura, respectivamente, estas seriam indicativas de resultado positivo.

Alíquotas do crescimento em caldo lactose foram transferidas para a placa de Petri contendo ágar Mc Conkey para o isolamento de *Escherichia coli*. Após incubação a $32,5 \pm 2,5$ °C por 24 a 48h, caso tivesse sido verificada a presença de colônias de coloração vermelho-tijolo seria indicativo de resultado positivo.

Para o isolamento de *Salmonella sp.*, o crescimento obtido nos meios de enriquecimento seletivo foi transferido para placas de Petri contendo: ágar verde brilhante, ágar sulfito bismuto, ágar com xilose, lisina e desocicolato (ágar XLD), utilizando a técnica de estria em superfície. As placas foram incubadas a $32,5 \pm 2,5$ °C, por 24 a 48h. Se houvesse a presença de colônias pequenas, transparentes, incolores ou rosas a branco opaco, freqüentemente, circundadas por zona rosa a vermelha no ágar verde brilhante; colônias vermelhas com ou sem centros negros no ágar XLD e colônias pretas ou verdes no ágar sulfito de bismuto, indicariam resultado positivo.

4.2.3.3 Pesquisa de bactérias amonificadoras

A pesquisa de bactérias amonificadoras, foi realizada no departamento de solos situado na Escola Superior de Agricultura ESALQ-USP. No laboratório de solos da Esalq, a metodologia adotada é a de PRAMER & SCHMIDT, 1965.

Foi obtida uma suspensão em frasco Erlenmeyer com 10,0g das amostras de *turfa pura*, *lama sulfurosa*, *fango maturado* e *fango em maturação* coletadas em Araxá-MG em 90,0 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,85% p/v, homogenizando-se.

As diluições foram realizadas, transferindo-se, com o auxílio de uma pipeta, alíquotas de 0,1mL da suspensão, previamente preparada para tubos

de ensaio contendo 0,9mL de meio de cultura para bactérias amonificadoras, totalizando 1,0 ml.

Foram realizadas quatro repetições para as seguintes diluições decimais: 10^{-3} a 10^{-7} , sendo que a presença de amônia foi identificada pela formação de cor marrom aveludada quando adicionado o reagente de Nessler.

A partir dos resultados obtidos, para cada uma das diluições com tubos positivos de formação da amônia, e com auxílio de uma tabela de probabilidade de ocorrência Tabela de Cochran (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994), estimou-se o (NMP) de microrganismos amonificadores.

Tabela 2. Número Mais Provável (NMP) para uso com três diluições decimais (quatuplicata), com probabilidade (Prob.) de ocorrência e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança (IC) a 95% (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994)

Diluição						
1	0,1	0,01	NMP	Prob. (%)	IC (mín.)	IC (máx.)
1	0	0	0,225	37,449	0,062	1,445
2	0	0	0,598	28,252	0,186	2,283
3	0	0	1,126	24,382	0,410	3,802
4	0	0	2,311	23,822	0,941	10,213
0	1	0	0,227	3,352	0,055	1,268
1	1	0	0,519	5,788	0,161	1,916
2	1	0	0,926	8,865	0,337	2,877
3	1	0	1,597	14,093	0,644	4,796
4	1	0	3,614	31,830	1,526	15,319
0	2	0	0,460	0,172	0,142	1,665
1	2	0	0,794	0,584	0,288	2,375
2	2	0	1,278	1,540	0,517	3,490
3	2	0	2,137	4,307	0,926	5,913
4	2	0	6,215	28,693	2,505	23,367
0	3	0	0,700	0,006	0,254	2,045
1	3	0	1,081	0,038	0,438	2,834
2	3	0	1,655	0,161	0,723	4,133
3	3	0	2,770	0,793	1,261	7,172
4	3	0	11,450	25,514	4,428	38,923
0	4	0	0,943	0,000	0,383	2,419
1	4	0	1,380	0,001	0,606	3,299
2	4	0	2,059	0,008	0,955	4,810
3	4	0	3,517	0,072	1,661	8,588
4	4	0	23,978	26,174	9,816	110,708
0	0	1	0,226	0,331	0,054	1,255
1	0	1	0,513	0,565	0,159	1,892
2	0	1	0,912	0,850	0,332	2,829
3	0	1	1,562	1,311	0,630	4,663
4	0	1	3,387	2,705	1,435	13,518
0	1	1	0,455	0,045	0,141	1,648
1	1	1	0,784	0,150	0,285	2,344
2	1	1	1,258	0,387	0,509	3,428
3	1	1	2,085	1,042	0,904	5,726
4	1	1	5,498	5,802	2,271	19,610
0	2	1	0,691	0,003	0,251	2,024
1	2	1	1,068	0,021	0,432	2,796
2	2	1	1,627	0,089	0,711	4,055
3	2	1	2,693	0,419	1,229	6,921
4	2	1	9,398	9,199	3,731	29,251
0	3	1	0,933	0,000	0,397	2,393
1	3	1	1,362	0,001	0,598	3,254

Tabela 2. Número Mais Provável (NMP) para uso com três diluições decimais (quadruplicata), com probabilidade (Prob.) de ocorrência e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança (IC) a 95% (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994), (continuação)

2	3	1	2,024	0,011	0,938	4,715
3	3	1	3,406	0,099	1,613	8,255
4	3	1	16,268	15,031	6,640	49,168
0	4	1	1,181	0,000	0,520	2,760
1	4	1	1,668	0,000	0,779	3,721
2	4	1	2,450	0,000	1,192	5,408
3	4	1	4,245	0,011	2,068	9,754
4	4	1	38,499	36,950	16,169	170,485
0	0	2	0,450	0,001	0,139	1,630
1	0	2	0,774	0,005	0,281	2,314
2	0	2	1,238	0,013	0,501	3,370
3	0	2	2,037	0,035	0,884	5,555
4	0	2	4,980	0,170	2,095	17,075
0	1	2	0,683	0,000	0,248	2,002
1	1	2	1,054	0,002	0,427	2,758
2	1	2	1,601	0,008	0,700	3,981
3	1	2	2,620	0,037	1,198	6,688
4	1	2	8,068	0,603	3,285	24,094
0	2	2	0,924	0,000	0,375	2,367
1	2	2	1,343	0,000	0,590	3,210
2	2	2	1,990	0,002	0,923	4,623
3	2	2	3,302	0,019	1,568	7,954
4	2	2	12,958	1,621	5,364	35,463
0	3	2	1,168	0,000	0,515	2,370
1	3	2	1,646	0,000	0,769	3,670
2	3	2	2,402	0,000	1,171	5,297
3	3	2	4,100	0,005	2,003	9,362
4	3	2	21,838	4,696	9,469	60,745
0	4	2	1,419	0,000	0,666	3,095
1	4	2	1,960	0,000	0,962	4,140
2	4	2	2,857	0,000	1,443	6,012
3	4	2	5,024	0,000	2,516	10,939
4	4	2	70,197	37,360	37,360	271,301
0	0	3	0,677	0,000	0,246	1,981
1	0	3	1,041	0,000	0,422	2,724
2	0	3	1,575	0,000	0,689	3,910
3	0	3	2,557	0,000	1,169	6,478
4	0	3	7,118	0,006	2,966	20,743
0	1	3	0,912	0,000	0,371	2,342
1	1	3	1,326	0,000	0,583	3,167
2	1	3	1,954	0,000	0,908	4,535
3	1	3	3,207	0,000	1,526	7,676
4	1	3	10,938	0,039	4,598	28,697
0	2	3	1,157	0,000	0,059	2,701
1	2	3	1,625	0,000	0,758	3,620
2	2	3	2,368	0,000	1,149	5,197
3	2	3	3,963	0,000	1,954	8,972
4	2	3	16,780	0,172	7,379	42,000
0	3	3	1,403	0,000	0,659	3,061
1	3	3	1,932	0,000	0,950	4,078
2	3	3	2,803	0,000	1,415	5,892
3	3	3	4,838	0,000	2,432	10,482
4	3	3	28,400	0,887	12,910	73,902

Tabela 2. Número Mais Provável (NMP) para uso com três diluições decimais (quatuplicata), com probabilidade (Prob.) de ocorrência e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança (IC) a 95% (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994), (continuação)

0	4	3	1,657	0,000	0,818	3,422
1	4	3	2,258	0,000	1,153	4,556
2	4	2	3,279	0,000	1,709	6,617
3	4	3	5,848	0,000	3,000	12,145
4	4	3	138,569	42,187	52,601	507,080
0	0	4	0,903	0,000	0,367	2,317
1	0	4	1,308	0,000	0,576	3,125
2	0	4	1,921	0,000	0,894	4,452
3	0	4	3,119	0,000	1,488	7,416
4	0	4	9,538	0,000	4,072	24,461
0	1	4	1,143	0,000	0,504	2,672
1	1	4	1,603	0,000	0,749	3,570
2	1	4	2,321	0,000	1,131	5,093
3	1	4	3,839	0,000	1,888	8,678
4	1	4	13,951	0,001	6,194	33,395
0	2	4	1,388	0,000	0,652	3,027
1	2	4	1,908	0,000	0,937	4,023
2	2	4	2,752	0,000	1,391	5,766
3	2	4	4,672	0,000	2,354	10,070
4	2	4	20,920	0,008	9,706	48,923
0	3	4	1,641	0,000	0,809	3,387
1	3	4	2,226	0,000	1,138	4,490
2	3	4	3,208	0,000	1,678	6,472
3	3	4	5,618	0,000	2,896	11,613
4	3	4	36,181	0,084	17,084	88,599
0	4	4	1,898	0,000	0,975	3,748
1	4	4	2,577	0,000	1,351	4,974
2	4	4	3,708	0,000	1,989	7,224
3	4	4	6,698	0,000	3,528	13,339

4.2.3.4 Pesquisa de bactérias celulolítica

A pesquisa de bactérias celulolíticas foi realizada no departamento de solos situado na Escola Superior de Agricultura ESALQ-USP. No laboratório de solos da Esalq, a metodologia adotada é a citada por de PRAMER & SCHMIDT, 1965.

Foi obtida uma suspensão em frasco Erlenmeyer com 10,0g das amostras de *turfa pura*, *lama sulfurosa*, *fango maturado* e *fango em maturação* coletadas em Araxá-MG em 90,0 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,85% p/v, homogenizando-se.

As diluições foram realizadas, transferindo-se, com o auxílio de uma pipeta, alíquotas de 0,1mL da suspensão, previamente preparada para tubos de ensaio contendo 0,9mL de meio de cultura para bactérias celulolíticas, totalizando 1,0 ml.

A atividade celulolítica destas foi avaliada pelo método de HENDRICKS et al. 1995, utilizando como substrato a celulose microcristalina e a carboximetilcelulose. A metodologia utilizada foi a descrita no item em 4.2.6.3, com alteração do meio de cultura.

Foram realizadas quatro repetições para as seguintes diluições decimais: 10^{-3} a 10^{-7} , sendo que os tubos eram considerados positivos quando houvesse o aparecimento do halo no meio da celulose (da cor amarela para branca).

A partir dos resultados obtidos, em cada uma das diluições com tubos positivos para a formação do halo, e com auxílio de uma tabela de probabilidade de ocorrência Tabela de Mc Crady, conforme **Tabela 1** estimou-se o (NMP) de microrganismos celulolíticos.

4.2.3.5 Pesquisa das bactérias diazotróficas

A pesquisa de bactérias diazotróficas foi realizada pelo departamento de solos situado na Escola Superior de Agricultura ESALQ-USP. No laboratório de solos da Esalq, a metodologia adotada é a de PRAMER & SCHMIDT, 1965.

Foi obtida uma suspensão em frasco Erlenmeyer com 10g das amostras de *turfa pura*, *lama sulfurosa*, *fango maturado* e *fango em maturação* em 90,0 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,85% p/v, homogenizando-se.

As diluições foram realizadas, transferindo-se, com o auxílio de uma pipeta, alíquotas de 0,1mL da suspensão, previamente preparada para tubos de ensaio contendo 0,9mL de meio de cultura para bactérias celulolíticas, totalizando 1,0 ml.

Foram realizados três repetições para as seguintes diluições decimais, sendo que cada uma tem o tubo de Durham: 10^{-3} a 10^{-7} e a partir dos resultados obtidos, em cada uma das diluições com tubos positivos para a formação do gás (tubo de Durham se desloca de baixo para cima), e com auxílio de uma tabela de probabilidade de ocorrência **Tabela 3** estimou-se o (NMP) de microrganismos diazotróficos.

Tabela 3 . Número Mais Provável (NMP) para uso com três diluições decimais (triplicata), probabilidades de ocorrência (Prob.) e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança (IC) a 95% (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994).

Diluição Decimal			NMP	Prob. (%)	IC (mín.)	IC (máx.)
1	0,1	0,01				
1	0	0	0,357	39,203	0,087	2,058
2	0	0	0,917	31,927	0,288	3,773
3	0	0	2,312	34,098	0,871	12,822
0	1	0	0,305	3,365	0,074	1,698
1	1	0	0,736	6,445	0,228	2,762
2	1	0	1,469	11,963	0,535	4,951
3	1	0	4,272	37,433	1,664	21,327
0	2	0	0,620	0,156	0,192	2,239
1	2	0	1,138	0,627	0,414	3,468
2	2	0	2,106	2,318	0,847	6,261
3	2	0	9,324	32,817	3,331	38,555
0	3	0	0,944	0,004	0,343	2,762
1	3	0	1,568	0,030	0,635	4,194
2	3	0	2,855	0,216	1,229	7,726
3	3	0	23,970	36,594	9,128	139,550
0	0	1	0,300	0,332	0,073	1,675
1	0	1	0,723	0,624	0,225	2,711
2	0	1	1,432	1,120	0,522	4,791
3	0	1	3,850	3,099	1,511	17,662
0	1	1	0,611	0,045	0,189	2,208
1	1	1	1,118	0,179	0,407	3,401
2	1	1	2,406	0,632	0,823	6,037
3	1	1	7,488	6,579	2,777	28,088
0	2	1	0,930	0,004	0,338	2,722
1	2	1	1,538	0,025	0,623	4,108
2	2	1	2,763	0,170	1,191	7,420
3	2	1	14,938	12,507	5,569	50,581
0	3	1	1,261	0,000	0,512	3,233
1	3	1	1,988	0,002	0,871	4,842
2	3	1	3,602	0,021	1,632	8,966
3	3	1	46,208	42,767	17,836	240,763
0	0	2	0,601	0,001	0,186	2,176
1	0	2	1,098	0,006	0,399	3,336
2	0	2	1,990	0,019	0,802	5,832
3	0	2	6,348	0,158	2,434	22,749
0	1	2	0,917	0,000	0,334	2,684
1	1	2	1,510	0,002	0,612	4,026
2	1	2	2,680	0,015	1,156	7,143
3	1	2	11,520	0,649	4,380	35,159
0	2	2	1,242	0,000	0,505	3,185

Tabela 3. Número Mais Provável (NMP) para uso com três diluições decimais (triplicata), probabilidades de ocorrência (Prob.) e limites mínimo e máximo do intervalo de confiança (IC) a 95% (ANDRADE & HAMAKAWA, 1994), (continuação).

Diluição Decimal						
1	0,1	0,01	NMP	Prob. (%)	IC (mín.)	IC (máx.)
2	2	2	3,478	0,005	1,579	8,598
3	2	2	21,470	2,470	8,652	64,067
0	3	2	1,579	0,000	0,695	3,693
1	3	2	2,418	0,000	1,126	5,486
2	3	2	4,408	0,001	2,082	10,217
3	3	2	109,849	44,442	38,227	478,767
0	0	3	0,904	0,000	0,329	2,645
1	0	3	1,482	0,000	0,601	3,948
2	0	3	2,600	0,000	1,123	6,887
3	0	3	9,538	0,004	3,706	27,927
0	1	3	1,224	0,000	0,498	3,140
1	1	3	1,911	0,000	0,838	4,644
2	1	3	3,359	0,000	1,529	8,261
3	1	3	15,878	0,032	6,485	42,502
0	2	3	1,555	0,000	0,686	3,636
1	2	3	2,370	0,000	1,104	5,356
2	2	3	4,240	0,000	2,009	9,782
3	2	3	29,170	0,235	12,543	79,220
0	3	3	1,898	0,000	0,890	4,141
1	3	3	2,860	0,000	1,397	6,126
2	3	3	5,254	0,000	2,574	11,478

4.2.3.6 Análise respirométrica

Neste trabalho utilizamos o sistema de titulação para quantificação do gás carbônico desprendido das amostras.

Inicialmente, foram adicionados ao Respirômetro de Bartha (**Figura 14**) cerca de 100 g de cada amostra de *turfa pura*, *lama sulfurosa*, *fango maturado* e *fango em maturação* coletada em Araxá-MG. O sistema continha 20,0 ml de solução de NaOH a 0,5 N (JUNIOR et al,2003 ; PEREIRA et al, 2002).

Figura 14 – Fotografia do Respirômetro de Bartha.

Foram realizadas o leituras do 1º ao 8 º dia.

O procedimento para cada leitura , ou seja, do 1º ao 8 º dia está descrito a seguir:

- 1) Adicionou-se 1,0 mL de solução de cloreto de bário 0,1 N. Homogenizou-se o sistema e procedeu-se à titulação.
- 2) Adicionou-se solução padrão de ácido clorídrico HCl 0,1N para titular o hidróxido de sódio residual , utilizando solução alcoólica indicadora de fenolftaleína até obter coloração incolor.

3) A quantidade de CO₂ desprendido de cada amostra foi obtida ao titular o álcali residual ou não reativo, pois todo esse gás é removido sob a forma de Ba₂CO₃ (**Reação 3**).

4) O cálculo da taxa respirométrica é dado pela **Equação 8**:

$$\text{Equação 8: } TR = N \times f \times (Vb - Va) \times 20/5$$

Onde:

TR: taxa respirométrica

N = normalidade do HCl

f = fator de correção da solução de HCl

Vb = volume (ml) de HCl gasto para titular o branco

Va = volume (ml) de HCl gasto para titular o NaOH correspondente às amostras

20 = volume (mL) de NaOH nos tubos

5 = volume (ml) de NaOH usado em cada titulação

A seguir, é apresentado o esquema da reação ocorrida no respirômetro de Bartha.

Reação 3. esquema da reação ocorrida no respirômetro de Bartha.

Desta forma somente é titulado o NaOH excedente, que não reagiu com o CO₂ desprendido da amostra.

4.2.4 Análise Físico-química

As análises físicos-químicas foram realizadas pelo laboratório de ciências do solo na ESALQ e seguiram os modelos padrões preconizados por RAIJ e colaboradores 2001, e estão descritos resumidamente a seguir

4.2.4.1 Análise de pH e micronutrientes

O pH do solo foi medido em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. O cálcio e magnésio trocáveis foram extraídos por resina de troca iônica e quantificados por Espectrofotometria de Absorção Atômica de Chama (AAS). O potássio (K^+) trocável e o fósforo (P) foram extraídos pelo sistema, sendo o potássio determinado por fotometria de emissão atômica e a intensidade da cor do fósforo foi quantificada em um colorímetro com solução de ácido ascórbico e molibdato de amônio para dar desenvolvimento da cor (PARKINSON & ALLEN, 1975).

Os micronutrientes: zinco cobre, ferro e manganês foram extraídos pelo dietileno-pentaacético (DTPA) e quantificados por meio de Espectrofotometria de Absorção Atômica de Chama (AAS). O boro (B) foi extraído com cloreto de bário (microondas) e quantificado por espectrofotometria em 420nm (PARKINSON & ALLEN, 1975).

O nitrogênio total do *Fango* foi determinado por digestão com mistura contendo ácido sulfúrico e posterior destilação com hidróxido de sódio, sendo o destilado recolhido em solução de ácido bórico (20g L^{-1}) e posteriormente titulado com ácido sulfúrico $0,05 \text{mol L}^{-1}$ (PARKINSON & ALLEN, 1975).

4.2.5 Análise de metais – métodos das curvas de calibração

Determinação de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ~~cobre~~, ferro, manganês, zinco, níquel, cádmio, cromo e chumbo em ácido ~~nítrico~~ usando o método da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (US-EPA) (QUAGGIO & RAIJ, 2001).

A técnica utilizada é a de digestão das amostras, com aquecimento em microondas (SW – método 3051), seguindo com a determinação por ICP-AES (Espectrofotometria de Emissão Atômica por Plasma). A técnica de digestão usando aquecimento por microondas está entre os métodos mais recentes para a dissolução das amostras de solo. As vantagens dessa técnica são as seguintes: menor tempo de digestão, melhor controle das contaminações, dissolução mais completa das amostras e menor perda dos elementos voláteis (QUAGGIO & RAIJ, 2001).

Procedimentos para digestão da amostra (Método SW 846 -~~3051~~) (QUAGGIO & RAIJ, 2001):

- Pesararam-se 500,0 mg da amostra de *fango maturado e fango em maturação*, triturados em gral de massa e transferiu-se para Erlenmeyer de capacidade de 125 mL;
- Posteriormente, transferiu-se para os frascos de digestão;
- Adicionaram-se 10,0 mL de ácido nítrico concentrado (65% m/m), deixando os frascos abertos em repouso por 15 min e, fechando-os em seguida;
- Colocararam-se os frascos para digestão simultânea em forno de microondas com potência de 600 W, programando-o, conforme **Quadro 8**;

- Após o término da programação, resfriaram-se os frascos até alcançar pressão em torno ou menor que 69 KPa (10 psi) e retirou-se a tampa na capela de exaustão;
- Transferiu-se a solução dos frascos quantitativamente, com água, para balões volumétricos de 50,0 mL, diluiu-se com água destilada e filtrou-se em papel de filtro qualitativo antes da determinação.

Quadro 8. Condições de uso do forno de microondas para a digestão de amostras de solo pelo método EPA-3051 (QUAGGIO & RAIJ, 2001).

Potência	600 W
Pressão	415 KPa (60 psi)
Tempo total	10 min
Tempo de digestão	5 min e 30 seg

Determinação por ICP-AES (QUAGGIO & RAIJ, 2001):

Ajustou-se o espectrofotômetro de ICP-AES utilizando as linhas espectrais dos elementos de interesse, descritas no **Quadro 9**. Usou-se o corretor de fundo, de acordo com as instruções operacionais do equipamento. Construiu-se a curva analítica utilizando as soluções-padrão de trabalho **Tabela 4** e as concentrações equivalentes no solo.

Tabela 4. Concentração das soluções-padrão de referência secundário, utilizadas para a calibração do espectrômetro de emissão atômica por plasma (ICP-AES) isoladamente e incorporada nas amostras de solo (QUAGGIO & RAIJ, 2001)

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

(1) Essas concentrações no solo foram calculadas tomando 500,0 mg de amostra e diluindo-se a solução final de medida para 50,0 mL.

Quadro 9. Comprimentos de onda sugeridos para a determinação de alguns elementos por espectrômetro de emissão atômica por plasma (ICP-AES) (QUAGGIO & RAIJ, 2001)

Elemento	Comprimento de onda (nm)
P	178,225
S	180,672
Ca	317,933
Mg	279,079
K	766,491
Cu	324,754
Fe	259,940
Mn	257,610
Zn	213,856
Al	308,215
Mo	202,030
Cd	226,502
Cr	276,716
Ni	231,604
Pb	220,353
Co	228,616

4.2.6 Características organolépticas

As amostras foram analisadas quanto: aparência, cor e odor (FERREIRA, 2002). Os ensaios foram realizados a olho nu, observando as características citadas acima de acordo com os critérios descritos na **Tabela 5** a seguir:

Tabela 5. Critérios de inclusão quanto a cor, odor e aspecto físico das amostras de Turfa Pura, Lama Sulfurosa, *Fango* em maturação e *Fango* maturado de acordo com as especificações das Termas em Araxá-MG.

Amostra	Critérios	de	Inclusão
	Cor	Odor	Aspecto Visual
<i>Turfa Pura</i>	Negra	Leve odor de enxofre	Lama preta seca, quando em contato com água adsorve-a e se torna semelhante a Lama. Toque grosseiro na pele.
<i>Lama Sulfurosa</i> Andrade Júnior	Negra	Odor forte de enxofre	Água + Lama negra
<i>Fango em</i> <i>maturação</i>	Negra	Odor de enxofre	Água + Lama negra
<i>Fango maturado</i>	Negra	Odor de enxofre	Água + Lama negra, com granulometria mais fina. Toque mais suave na pele.

4.2.7 Análise parasitológica

A metodologia para a análise parasitológica das amostras de Turfa Pura, Lama Sulfurosa, *Fango* em maturação e *Fango* maturado seguiu as orientações do Método de Baermann, modificado para recuperação das Larvas de *Ancylostoma* spp. Colocou-se a água aquecida no funil com o tubo de látex vedado pela pinça de Mohr, quantidade suficiente para tocar a extremidade inferior da peneira contendo as amostras. Depositou-se pequena quantidade do solo sobre a peneira contendo gaze e deixar em repouso, por 45 a 60 min. Após este tempo, soltou-se a pinça de Mohr e deixar que o material escorra para um tubo de hemólise. Centrifugou-se o material em baixa rotação e observou-se o sedimento em microscópio em objetiva de 10x em sentido direcional esquerda-direita, para a pesquisa da presença *larva migrans cutânea*, de acordo com a **Figura 15** (CARLI, 2001).

Figura 15. Fotografia *Ancylostoma braziliense* (Larva *migrans*) Fonte: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL Disponível em: <www.ufrgs.br/parasite/Imagensatlas/Animalia/Ancylostoma%20braziliense.htm>

5. RESULTADOS e DISCUSSÃO

5.1 Análise granulométrica

A seguir estão apresentados na **Tabela 6, 7, 8 e figura 16** o resultado obtido na análise granulométrica nas amostras: *Turfa Pura*; Lama sulfurosa e *Fango maturado*, coletadas na estância hidrográfica do barreiro em Araxá-MG.

Tabela 6. Análise granulométrica da *Turfa Pura* pelo método da tamisação e pipetagem.

Areia (%)						Silte	Argila (%)		Classe de textura
MG	G	M	F	MF	Tot.		Tot.	Água	
23	42	10	4	3	82	11	7	0	Ar

Legenda:

MG = muito grossa (2,0-1,0mm)/ **G** = grossa (1,0-0,5mm)/ **M**= média (0,5-0,25mm)/ **F**= Fina (0,25-0,10mm)/ **MF**= muito fina (0,10-0,05mm)/

Tot= Total/ **Ar**= Arenosa Considera-se 100 % de flocação

Tabela 7. Análise granulométrica da *Lama Sulfurosa* pelo método de tamisação e pipetagem

Areia%						Silte	Argila (%)		Classe de Textura
MG	G	M	F	MF	Tot.		Tot.	Água	
13	20	6	4	4	47	32	21	13	md-ar

Legenda: Unidade(mm)

MG = muito grossa (2,0-1,0mm)/**G** = grossa (1,0-0,5mm)/ **md-ar** – média arenosa/**M**= média (0,5-0,25mm)/ **F**= Fina (0,25-0,10mm)/**MF**= muito fina (0,10-0,05mm)

Tot= Total Considera-se 40 % de flocação

Tabela 8. Análise granulométrica do *Fango Maturado* pelo método de tamisação e pipetagem

Areia%						Silte	Argila (%)		Classe de Textura
MG	G	M	F	MF	Tot		Tot.	Água	
11	27	8	6	7	57	24	17	13	md-ar

Legenda:

MG = muito grossa (2,0-1,0mm)/ **G** = grossa (1,0-0,5mm)/ **M**= média (0,5-0,25mm)/ **F**= Fina (0,25-0,10mm)/ **MF**= muito fina (0,10-0,05mm)

Tot= Total/ **md-ar** – média arenosa Considera-se 25 % de flocculação

Figura 16. Análise granulométrica das amostras *Turfa pura*, *Lama sulfurosa* e *Fango maturado*.

O solo arenoso apresenta composição predominante de minerais primários ou, também, denominados minerais originais, como quartzo, micas e feldspatos. Esta fração é quimicamente inativa, porém após período de tempo

prolongados ocorre desagregação originando partículas de tamanho coloidal e cátions permutáveis (BRADY ^h,1999).

As frações argila e silte formaram-se mediante o intemperismo de materiais menos resistentes, à medida que progrediu a formação do solo, e são denominados minerais secundários. As argilas silicatas e outros minerais secundários (na sua maioria Si, Fe, Al, O e OH) são responsáveis pela permuta de cátions. Estas frações são carregadas negativamente e tem a capacidade de atrair e reter (adsorver) cátions nas suas superfícies (BRADY ^h,1999). Q

A *Turfa pura* possui partículas maiores. Como podemos constar na **Tabela 6.**, 82% da amostra encontra-se na faixa de granulometria “areia”. Dentre esta percentagem, considerando-se a areia como 100%, 28% são partículas muito grossas; 51,21% são grossas e apenas 3,65% são muito finas. Por isso, na *Turfa pura* temos o aspecto visual de um solo mais grosseiro e o toque na pele é áspero comparado ao *Fango maturado*.

A *Lama sulfurosa* tem granulometria mais fina, onde 53% da amostra encontram-se na faixa “silte” – argila, com tamanho de partícula menor que 0,05mm.

O *Fango maturado* possui granulometria médio-arenoso e assemelha-se visualmente à *Lama sulfurosa*. No *Fango maturado*, 43% da amostra encontra-se na faixa “silte” – argila, onde 24% são “silte”, com tamanho de partícula entre 0,05 e 0,004mm e 17% com granulometria menor que 0,004mm.

A distribuição do tamanho de partícula no fango pode ser empregada como indicador para desenvolver formulações cosméticas mais estáveis e adequadas ao sensorial agradável.

5.2 Análise físico-química

A seguir serão apresentados os resultados obtidos na análise físico-química e o teor de matéria orgânico encontrado em cada amostra coletada em Araxá-MG.

Tabela 9. Resultado da análise físico-química e do material orgânico da *Turfa pura*.

Determinações	Umidade natural	Base seca (110 °C)
pH em CaCl ₂ 0,01M	3,4	—
Densidade g/cm ³	0,97	—
Umidade perdida a 60-65 °C (%)	77,15	—
Umidade perdida entre 65-110 °C (%)	1,32	—
Umidade total (%)	78,47	00,00
Inertes (%)	—	—
Matéria orgânica total (combustão) (%)	12,66	58,80
Matéria orgânica compostável (%)	11,78	54,71
Matéria orgânica resistente a compostagem (%)	0,88	4,09
Carbono total (orgânico e mineral) (%)	7,03	32,65
Carbono orgânico (%)	6,55	30,42
Resíduo mineral total (%)	8,87	41,20
Resíduo mineral insolúvel (%)	6,43	29,87
Resíduo mineral solúvel (%)	2,44	11,33
Nitrogênio total (%)	0,36	1,67
Fósforo (%)	0,02	0,09
Potássio (%)	0,03	0,14
Cálcio (%)	0,24	1,11
Magnésio (%)	0,01	0,05
Enxofre (%)	0,01	0,05
Relação C/N (C total e N total)	20,0/1,0	20,0/1,0
Relação C/N (C orgânico e N total)	18,0/1,0	18,0/1,0
Cobre mg/kg	5,0	23,0
Manganês mg/kg	10,0	46,0
Zinco mg/kg	3,0	14,0
Ferro mg/kg	873,0	4055,0
Boro mg/kg	1,0	5,0
Sódio mg/kg	7638,0	35476,0

Tabela 10. Resultado da análise físico-química e do material orgânico da *Lama sulfurosa* Fonte Andrade Júnior.

Determinações	Umidade natural	Base seca (110°C)
pH em CaCl ₂ 0,01M	8,2	—
Densidade g/cm ³	1,13	—
Umidade perdida a 60-65 °C (%)	89,25	—
Umidade perdida entre 65-110 °C (%)	0,34	—
Umidade total (%)	89,59	00,00
Inertes (%)	—	—
Matéria orgânica total (combustão) (%)	2,70	25,94
Matéria orgânica compostável (%)	2,26	21,71
Matéria orgânica resistente a compostagem (%)	0,44	4,23
Carbono total (orgânico e mineral) (%)	1,50	14341
Carbono orgânico (%)	1,25	12,01
Resíduo mineral total (%)	7,71	74,06
Resíduo mineral insolúvel (%)	1,25	12,01
Resíduo mineral solúvel (%)	6,45	61,96
Nitrogênio total (%)	0,11	1,06
Fósforo (%)	0,10	0,96
Potássio (%)	0,03	0,29
Cálcio (%)	1,74	16,71
Magnésio (%)	0,18	1,73
Enxofre (%)	0,13	1,25
Relação C/N (C total e N total)	13,0/1,0	13,0/1,0
Relação C/N (C orgânico e N total)	11,0/1,0	11,0/1,0
Cobre mg/kg	8,0	77,0
Manganês mg/kg	486,0	4669,0
Zinco mg/kg	23,0	221,0
Ferro mg/kg	580,0	5572,0
Boro mg/kg	2,0	19,0
Sódio mg/kg	37,0	355,0

Tabela 11. Resultado da análise físico-química e do material orgânico *Fango em maturação*.

Determinações	Umidade natural	Base seca (110°C)
pH em CaCl ₂ 0,01M	6,5	—
Densidade g/cm ³	1,10	—
Umidade perdida a 60-65 °C (%)	91,83	—
Umidade perdida entre 65-110 °C (%)	0,56	—
Umidade total (%)	92,39	00,00
Inertes (%)	—	—
Matéria orgânica total (combustão) (%)	4,92	64,65
Matéria orgânica compostável (%)	4,01	52,69
Matéria orgânica resistente a compostagem (%)	0,91	11,96
Carbono total (orgânico e mineral) (%)	2,73	35,87
Carbono orgânico (%)	2,23	29,30
Resíduo mineral total (%)	2,69	35,35
Resíduo mineral insolúvel (%)	1,87	24,57
Resíduo mineral solúvel (%)	0,82	10,78
Nitrogênio total (%)	0,15	1,97
Fósforo (%)	0,01	0,13
Potássio (%)	0,02	0,26
Cálcio (%)	0,12	1,58
Magnésio (%)	0,01	0,13
Enxofre (%)	0,02	0,26
Relação C/N (C total e N total)	18,0/1,0	18,0/1,0
Relação C/N (C orgânico e N total)	15,0/1,0	15,0/1,0
Cobre mg/kg	2,0	26,0
Manganês mg/kg	2,0	26,0
Zinco mg/kg	2,0	26,0
Ferro mg/kg	4882,0	64152,0
Boro mg/kg	1,0	13,0
Sódio mg/kg	1530,0	20105,0

Tabela 12. Resultado da análise físico-química e do material orgânico do *Fango maturado*.

Determinações	Umidade natural	Base seca (110 °C)
pH em CaCl ₂ 0,01M	8,4	—
Densidade g/cm ³	1,08	—
Umidade perdida a 60-65 °C (%)	95,09	—
Umidade perdida entre 65-110 °C (%)	0,31	—
Umidade total (%)	95,40	00,00
Inertes (%)	—	—
Matéria orgânica total (combustão) (%)	2,23	48,48
Matéria orgânica compostável (%)	1,99	43,26
Matéria orgânica resistente a compostagem (%)	0,24	5,22
Carbono total (orgânico e mineral) (%)	1,24	26,96
Carbono orgânico (%)	1,11	24,13
Resíduo mineral total (%)	2,37	51,52
Resíduo mineral insolúvel (%)	1,89	41,09
Resíduo mineral solúvel (%)	0,48	10,43
Nitrogênio total (%)	0,06	1,30
Fósforo (%)	0,01	0,22
Potássio (%)	0,02	0,43
Cálcio (%)	0,05	1,09
Magnésio (%)	0,01	0,22
Enxofre (%)	0,01	0,22
Relação C/N (C total e N total)	22,0/1,0	22,0/1,0
Relação C/N (C orgânico e N total)	20,0/1,0	20,0/1,0
Cobre mg/kg	1,0	22,0
Manganês mg/kg	2,0	43,0
Zinco mg/kg	1,0	22,0
Ferro mg/kg	1219,0	26500,0
Boro mg/kg	1,0	22,0
Sódio mg/kg	1431,0	31109,0

Figura 17. Gráfico comparativo do teor da matéria orgânica das amostras *Turfa pura*, *Lama sulfurosa*, *Fango em maturação* e *Fango maturado*.

A *Turfa* é classificada na taxonomia de acordo com o grau de decomposição. Depósitos que foram submetidos à escassa ou nenhuma decomposição denominam-se *Turfa (peat)*, enquanto aqueles que foram submetidos à pronunciada degradação denominam-se terras turfosas (*muck*). A *Turfa* de Araxá-MG é classificada taxonomicamente como *Turfa (peat)*, pois apresenta textura grossa (1,0 a 0,5 mm), como descrito no **Quadro 3**, e ainda não passou pelo processo de decomposição, como podemos constatar na **Tabela 9**, na qual apresenta 30,42% de carbono orgânico disponível para decomposição. O mínimo que um solo deve possuir para ser classificado como

“orgânico” é 12% de carbono compostável, portanto a turfa é considerada um solo orgânico (BRADY, 1989¹).

A *Turfa* é um solo orgânico em estágio primitivo de decomposição (BRADY¹, 1989), por isso, os valores de matéria orgânica total encontrados foram elevados, como consta na **Tabela 9** o valor de 58,80%.

Para a obtenção do *Fango* é fundamental que existam quantidades significativas de matéria orgânica compostável. Esta será metabolizada pelos microrganismos para obtenção de energia, produzindo as substâncias de ação terapêutica e cosmética para a pele. Dentre estas substâncias podemos citar: flavonóides, mucopolissacarídeos, ácidos graxos e proteoglicanos (CARDOSO, 2004), com ações antienvhecimento, regeneradora e emoliente.

A seguir, serão apresentadas nas **Figuras 18 a 22**, de acordo com as **Tabelas 9 a 12**, os gráficos comparativos dos minerais: fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês, zinco, boro e sódio nas amostras da *Turfa*, *Lama sulfurosa*, *Fango em maturação* e *Fango maturado*.

Figura 18. Gráfico da quantidade dos elementos fósforo, potássio, magnésio e enxofre antes do processo de maturação (*Turfa pura*; *Lama sulfurosa*), durante (*Fango em maturação*) e *Fango maturado*.

Figura 19. Gráfico da quantidade do elemento cálcio antes do processo de maturação (*Turfa pura*; *Lama sulfurosa*), durante (*Fango em maturação*) e *Fango maturado*.

Figura 20. Gráfico da quantidade dos elementos cobre, boro e zinco antes do processo de maturação (*Turfa pura*; *Lama sulfurosa*), durante (*Fango em maturação*) e *Fango maturado*.

Figura 21. Gráfico da quantidade do elemento manganês antes do processo de maturação (*Turfa pura*; *Lama sulfurosa*), durante (*Fango em maturação*) e *Fango maturado*.

Figura 22. Gráfico da quantidade inicial dos elementos ferro e sódio antes do processo de maturação (*Turfa pura; lama sulfurosa*), durante (*Fango em maturação*) e *Fango maturado*.

O cálcio, magnésio, potássio, sódio e alumínio são cátions trocáveis e representam a quantidade de íons positivos, que podem ser retidos no solo por atração eletrostática. Os quatro primeiros íons são cátions básicos e o alumínio é um cátion ácido. Estes íons, em solução, determinarão algumas características físico-químicas do solo, tais como: pH, densidade e a disponibilidade de nutrientes para os meios (nutrição de plantas, adubação do solo e co-fatores em reações bioquímicas de microrganismos).

Algumas enzimas necessitam de íons metálicos como cofatores da reação, como por exemplo mencionado no **Quadro 10** (LEHNINGER et al, 1993) :

Quadro 10. Elementos orgânicos como co-fatores de enzimas (LEHNINGER et al, 1993)

Elemento	Enzima
Fe ²⁺ ou Fe ³⁺	Citocromo oxidase, catalase e peroxidase
Cu ²⁺	Citocromo oxidase
Zn ²⁺	Anidrase carbônica, álcool desidrogenase
Mg ²⁺	Hexoquinase, glicose-6-fosfatase, piruvato quinase
Mn ²⁺	Arginase, Ribonucleotídeo redutase
K ⁺	Piruvato quinase
Ni ²⁺	Uréase
Mo	Dinitrogenase
Se	Glutathione peroxidase

Na camada córnea, os corneócitos contêm uma substância capaz de reter a água em seu interior, esta substância é conhecida como Fator de Hidratação Natural (NMF – Natural Moisturizing Factor). O Fator de hidratação natural tem a seguinte composição, descrita no **Quadro 11**.

Quadro 11. Composição do Fator de Hidratação Natural (NMF) (HORIBE, 2000)

Componente	%
Aminoácidos livre	40
Ácido pirrolidona carboxílico (PCA)	12
Uréia	7
Ácido úrico/glicosaminas/cretinina	1,5
Sódio	5
Cálcio	1,5
Potássio	4
Magnésio	1,5
Fosfatos	0,5
Cloretos	6
Lactatos	12
Citratos, formiatos	0,5
Frações interminadas	8,5

Na pele, íons como o zinco e enxofre, agem como bactericidas (EIRA, A.F.; JR. O. G.; HUNGRIA, M. & URQUIAGA, S., 1992; CARDOSO, 2004;

BONADEO, 1998), podendo ter ação antiacne e anti-seborreica, quando utilizado em formulações cosméticas (KEDE & SABATOVICH, 2004).

O ferro é essencial no processo de respiração celular, permitindo a oxigenação dos tecidos; o magnésio, além de hidratante, é um elemento ativador do sistema de defesa, sendo antialérgico e antiinflamatório; o manganês desempenha papel importante na síntese do colágeno e no aumento da hidratação cutânea (KEDE & SABATOVICH, 2004).

O pH do Fango maturado, conforme apresentado na **Tabela 12**, é 8,4; classificado como alcalino. A epiderme possui o manto ácido, que tem papel fundamental na proteção aos agentes externos, sendo uma barreira para a penetração de fungos e bactérias (BARATA, 1995). Nota-se a importância no desenvolvimento de uma formulação contendo o fango, considerando a manutenção de suas características para maior eficácia do produto, sem alterar suas propriedades e também visando a melhoria do estado da pele, sem agredi-la.

Formulações com função de limpeza, como os sabonetes líquidos corporais e faciais possuem pH neutro e as emulsões hidratantes são ligeiramente ácidas. Como na composição da pele possuímos ácidos graxos, podemos esperar que ao aplicar o Fango com pH alcalino, ocorra a saponificação de tais substâncias, removendo a barreira, pois atuaria como redutores da oleosidade e facilitando a penetração de substâncias ativas incorporadas nas formulações.

5.3 Análise microbiológica

5.3.1 Contagem de microrganismos totais

A seguir estão apresentados os resultados obtidos do crescimento de microrganismos viáveis pelo método do número mais provável (NMP) das amostras: *Turfa pura*; *Lama sulfurosa*; *Fango em maturação* e *Fango maturado*, coletadas na estância hidrográfica do barreiro em Araxá-MG, conforme apresentados na **Tabela 13 e Figura 23**.

Tabela 13. Contagem do número mais provável de microrganismos por grama de solo na *Turfa pura*; *Lama sulfurosa*; *Fango em maturação* e *Fango maturado*.

Amostras				
	<i>Turfa pura</i>	<i>Lama Sulfurosa</i>	<i>Fango em maturação</i>	<i>Fango maturado</i>
	UFC/MI			
Bactérias Totais	$3,39 \times 10^4$	$1008,00 \times 10^4$	$644,32 \times 10^4$	598,59
Fungos	<100	<100	<100	<100
Bactérias Celulolíticas	$866,6 \times 10^7$	$0,29 \times 10^7$	$1,68 \times 10^7$	1,610
Bactérias Amonificadoras	$4,45 \times 10^4$	$31,04 \times 10^4$	$39,68 \times 10^4$	1,95
Bactérias Diazotróficas	$5,27 \times 10^2$	$1,86 \times 10^2$	$7,71 \times 10^2$	<100

Figura 23. Contagem do número mais provável de microrganismos por grama de solo na *Turfa pura*; *Lama sulfurosa* e *Fango em maturação*.

A **Resolução ANVS N.º 481**, de 23/9/99, que estabelece os parâmetros de controle microbiológico, permite o limite máximo de 5×10^3 Unidades Formadoras de Colônias por grama/mililitros. Dessa forma, o *Fango maturado* não estaria de acordo com a legislação vigente. Esta carga microbiana elevada, pode ser decorrente de uma pasteurização ineficiente ou consequência do armazenamento inadequado, em tanques abertos.

A decomposição da *Turfa* é realizada por microrganismos, dentre estes podemos destacar os celulolíticos (CARDOSO, 2004). A celulose, uma substância fibrosa, resistente e insolúvel em água é encontrada na parede celular dos vegetais, particularmente em raízes, troncos, galhos e em todas as partes lenhosas dos tecidos vegetais. Esta é formada por ligações glicosídicas do tipo ($\beta 1 \rightarrow 4$) (LEHNINGER et al, 1993). A *Turfa pura* e a *Lama sulfurosa*, possuem grandes quantidades de restos vegetais, que serão degradadas por

bactérias celulolíticas, liberando compostos de hidratos para o meio. Estes carboidratos serão fonte de energética para outros microrganismos.

A *Turfa* de Araxá-MG ainda não foi decomposta, portanto, foi encontrado um número elevado de bactérias celulolíticas, por grama de solo. O processo de maturação do *Fango*, que dura aproximadamente 6 meses, é o período que os microrganismos decompõem a matéria orgânica presente na *Turfa pura* e na *Lama sulfurosa*, originando o *Fango* com seus respectivos elementos com ação terapêutica e cosmética (CARDOSO, 2004; BONADEO, 1998).

As bactérias amonificadoras têm a função de converter o nitrogênio orgânico em amônio, o que implica no aumento do pH do solo (alcalino). Uma vez que o amônio está presente no solo, o mesmo pode seguir rotas diferentes, tais como: ser absorvido pelos próprios microrganismos amonificadores; ser absorvido por vegetais; ser absorvido pelos minerais de argila, passando a fazer parte do complexo de troca do solo; ser fixado no solo pela sua inclusão entre as lâminas dos minerais de argila, tornando-o indisponível para as plantas; ou ainda, ser oxidado a nitrato por certas espécies de bactérias quimiolitotróficas que o utilizam como fonte de energia, iniciando o processo de nitrificação (VICTORIA et al, 1992 ; FREIRE, 1992; RUMJANECK & NEVES, 1992; SILVA & AUER, 1992; DÖBEREINER, 1992; RUSCHEL & PONTES, 1992; FIORE, 1992; PERES et al, 1992; NEVES & FRANCO, 1992).

As bactérias diazotróficas tem a função de fixar o nitrogênio, tornando-o disponível como fonte de energética para os microrganismos do solo ((VICTORIA et al, 1992 ; FREIRE, 1992; RUMJANECK & NEVES, 1992; SILVA & AUER, 1992; DÖBEREINER, 1992; RUSCHEL & PONTES, 1992; FIORE, 1992; PERES et al, 1992; NEVES & FRANCO, 1992).

Nas etapas de obtenção do *Fango*, entre as bactérias diazotróficas e celulolíticas, temos o maior número de UFC em todas as etapas de bactérias diazotróficas. Isto se deve ao fato de termos uma grande disponibilidade de matéria orgânica, rica em nitrogênio, que será decomposta (VICTORIA et al, 1992 ; FREIRE, 1992; RUMJANECK & NEVES, 1992; SILVA & AUER, 1992; DÖBEREINER, 1992; RUSCHEL & PONTES, 1992; FIORE, 1992; PERES et al, 1992; NEVES & FRANCO, 1992).

A parede celular bacteriana contém unidades alternadas de N-acetilglicosamina e ácido-N-acetilmurâmico. Este heteropolímero é entrecruzado por peptídeos pequenos, denominados peptideoglicanos (LEHNINGER et al, 1993)

O espaço extracelular dos tecidos animais é preenchido com um material gelificado, chamado de matriz extracelular, a qual mantém unidas as células de um tecido e fornece uma via porosa para a difusão dos nutrientes e do oxigênio para as células individuais. A matriz extracelular é composta por uma rede de heteropolissacarídeos e por proteínas fibrosas interconectadas (LEHNINGER et al, 1993), tais como: glicosaminoglicanos, proteoglicanos, glicoproteínas adesivas, fibras colágenas e elásticas (BOSMAN & STAMENKOVIC, 2003).

Os proteoglicanos são compostos macromoleculares, constituídos por glicosaminoglicanos sulfatados ligados covalentemente ao seu corpo protéico, são responsáveis por resistir a força de compressão, são pontos de ancoragem e concentração de fatores de crescimento e para outras proteínas que estimulam a proliferação celular e ainda, têm papel importante como moléculas reguladoras do processo de reparo tecidual (DELEHEDDE et al, 2001).

Em função da composição rica da parede bacteriana e da matriz extracelular, sua lise fornecerá componentes importantes para as funções cosméticas do *Fango*.

Algumas matérias-primas cosméticas no mercado, tentam mimetizar a matriz extracelular, podemos citar:

- Elascom[®] (Farmaservice): elastina, colágeno e mucopolissacarídeo. Tem a função de restaurar e proteger os tecidos, melhora a elasticidade e o turgor da pele.

- Ceractiv[®] (Polytechno): ácido hialurônico, sulfato de condroitina, elastina hidrolisada e proteína vegetal hidrolisada. Associação de substâncias com propriedades que mimetizam as ceramidas e que agem como lubrificantes dos tecidos e restauradores da barreira do estrato córneo. Atua como excelente hidratante e normalizador eletrólitos cutâneos (SOUZA, 2005).

5.3.2 Pesquisa de microrganismos patogênicos no *Fango maturado*

A *Turfa pura*, a *lama sulfurosa* e o *Fango em maturação* não são aplicados diretamente no corpo, sendo a matéria-prima inicial e etapas do processo para obtenção do *Fango*, por isso, a análise para a pesquisa de microrganismos patogênicos foi realizada apenas no *Fango maturado* pronto para uso medicinal ou cosmético, visto que é este que será aplicado na pele “in natura” ou incorporado em formulações e não os demais.

No *Fango* maturado, na análise para a pesquisa de microrganismos patogênicos, utilizando os meios descritos no **item 4.2.6.2** não houve crescimento de nenhum microrganismo patogênico, indicando sua adequação para ser utilizado como produto cosmético tal qual ou incorporado em preparações cosméticas.

5.3.3 Análise Respirométrica

A seguir estão apresentados os resultados obtidos na análise respirométrica das amostras: *Turfa pura*; *Lama sulfurosa*; *Fango em maturação* e *Fango maturado*, coletadas na estância hidrográfica do barreiro em Araxá-MG, conforme apresentados na **Tabela 14**

Tabela 14. Análise respirométrica das amostras *Turfa pura*; *Lama sulfurosa*; *Fango em maturação* e *Fango maturado*, coletadas na estância hidrográfica do barreiro em Araxá-MG.

Produção diária CO ₂ mg/g de resíduo seco	tempo (dia)							
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º
<i>Turfa pura</i>	11,41	21,59	55,27	43,68	6,38	0,00	1,09	1,49
<i>Lama sulfurosa</i>	25,99	11,89	45,25	26,61	9,94	13,57	16,41	4,79
<i>Fango em maturação</i>	29,90	17,51	62,13	50,04	2,79	0,00	1,86	0,00
<i>Fango em maturado</i>	9,41	8,62	39,62	35,49	3,40	0,00	0,00	0,00

Somatória da Produção Diária de CO ₂ mg/g de resíduo seco	tempo (dia)							8º
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	
<i>Turfa pura</i>	11,41	33,00	88,27	132,14	138,52	138,52	139,60	141,10
<i>Lama sulfurosa</i>	25,99	37,88	83,12	109,13	119,67	133,24	149,65	154,44
<i>Fango em maturação</i>	29,90	47,41	109,54	159,58	162,37	162,37	164,23	164,23
<i>Fango maturado</i>	9,41	18,03	57,95	93,44	96,85	96,85	96,85	96,85

A respirometria do solo é um indicador importante para avaliar a degradação da matéria orgânica, ocasionada pelas bactérias presentes no solo, produzindo o gás carbônico (CO₂), que de acordo com a metodologia utilizada é absorvido pelo hidróxido de potássio e depois de titulado é expresso em µg de carbono por g de solo seco.

Se o resultado da análise respirométrica for elevado, é indicativo que existe muita matéria orgânica e microrganismos decompositores presentes no material avaliado.

À medida que o carbono orgânico é decomposto, forma-se o CO₂ que é a forma do carbono mineralizada. Por ser a *Turfa* um material com grandes quantidades de carbono compostável, espera-se que as taxas de CO₂ sejam elevadas no início, decaindo no final da análise.

Pelo grau de decomposição da matéria orgânica espera-se que os maiores valores sejam antes da maturação (*Turfa pura* e *Lama sulfurosa Andrade Júnior*) e durante a maturação, como comprova os dados da tabela 14, onde temos no Fango em maturação a somatória de 164,23 mg/g de CO₂ produzidos no oitavo dia e apenas 96,85 mg/g de CO₂ produzidos no Fango maturado. Após o sexto dia, a produção é nula no Fango maturado.

A respirometria é uma análise complementar à análise microbiológica, pois confirma a atividade microbiana no solo.

5.4 Análise parasitológica

Não constatamos pelo método de Baerman a presença da “*Larva migrans Cutânea*” na *Turfa pura*, *Lama sulfurosa*, *Fango em maturação* e no *Fango maturado*, o que torna o Fango maturado, considerando o conjunto das demais análises realizadas, adequado para ser aplicado à pele e seu potencial de uso como matéria-prima em formulações cosméticas.

É imprescindível esta análise nesta matéria-prima, não sendo comum em produtos cosméticos.

5.5 Análise de metais

A *Turfa pura* e a *Lama Sulfurosa* não são aplicadas diretamente no corpo. Estas matérias-primas são utilizadas no processo da maturação do *Fango*, como fonte de matéria orgânica, para ser decomposta por microrganismos, junto aos argilominerais e água sulfurosa termal e formam o *Fango maturado* (CARRETERO, 2002).

A análise toxicológica, foi realizada no *Fango em maturação* e *Fango maturado*.

Tabela 15. Análise de metais do *Fango em maturação* e *maturado*.

Parâmetro	Unidade	F.e.m		F.m	
		LQ	Resultados	LQ	Resultados
Cádmio	mg/kg	0,4	<0,4	0,6	< 0,6
Cromo	mg/kg	0,4	8,4	0,6	9,1
Níquel	mg/kg	0,4	18	0,6	18
Chumbo	mg/kg	0,4	4,0	0,6	4,0
Mercúrio	mg/kg	0,013	< 0,013	0,016	< 0,016
Alumínio	mg/kg	0,4	8694	0,6	13396
Molibdênio	mg/kg	0,4	< 0,4	0,6	< 0,6
Zinco	mg/kg	0,4	13	0,6	17
Manganês	mg/kg	0,4	13	0,6	19
Ferro	mg/kg	0,4	1179	0,6	978
Cobre	mg/kg	0,4	15	0,6	15
Boro	mg/kg	0,4	13	0,6	14
Enxofre	% p/p	0,05	2,15	0,05	6,66

Legenda:

LQ: Limite de quantificação

F.e.m.= *Fango em maturação*

F.m.= *Fango Maturado*

Muitas bactérias, fungos e líquens produzem ácidos (carbônico, nítrico, sulfúrico e ácidos orgânicos) que podem solubilizar metais provenientes de minerais e de rochas, tornando-o disponível (EIRA, 1992; JR., 1992; HUNGRIA & URQUIAGA, 1992).

Na preparação das amostras de solo para a análise de metais é realizada a abertura por digestão, em forno de microndas, o que disponibiliza os metais para sua quantificação, visto que os mesmos encontram-se ligados às frações minerais do solo.

Na análise físico-química do *Fango em maturação Tabela 11 e Fango Maturado Tabela 12*, foram obtidos valores diferentes para os metais, quando comparado aos resultados da análise de metais da **Tabela 15**. Isto se deve em função da diferença de metodologias utilizadas para quantificação dos elementos. A solução extratora (**Tabelas 11 e 12**) utilizada na análise físico-química, quantificou os íons que estavam solubilizados no solo, por outro lado na técnica por digestão de amostra (**Tabela 15**), a matéria orgânica foi oxidada pelo peróxido de hidrogênio, liberando os metais ligados aos óxidos e a outras frações minerais, com exceção da silicatada, o que resultou em valores maiores para os metais boro, cobre, ferro, manganês, enxofre e zinco (RAIJ et al, 2001).

Estas observações são importantes ao pensar na aprovação desta matéria-prima para ser incorporada em formulações cosméticas, pois o fato se obter no *Fango maturado* um resultado positivo para o metal, não significa que o mesmo estará disponível e entrará em contato com a pele ao ser aplicado.

Não existe relato na literatura de intoxicação por metais ao aplicar na pele o *Fango*, apenas ressalvas de alguns autores sobre a importância da sua quantificação.

Outra técnica de análise que envolva a avaliação apenas dos metais que estão solubilizados na amostra, seria ideal para verificar o risco real que o produto pode apresentar ao ser aplicado na pele.

5.6 Características organolépticas

A seguir estão apresentadas na **Tabela 16** as características organolépticas das amostras coletadas em Araxá-MG, *Turfa pura*, *Lama sulfurosa Andrade Júnior*, *Fango em maturação* e *Fango maturado*, de acordo com os critérios de inclusão apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 16 – Características organolépticas das amostras

<i>Amostra</i>	<i>Critérios</i>	<i>de</i>	<i>Inclusão</i>
	<i>Cor</i>	<i>Odor</i>	<i>Aspecto Visual</i>
<i>Turfa Pura</i>	De acordo	De acordo	De acordo
<i>Lama Sulfurosa Andrade Júnior</i>	De acordo	De acordo	De acordo
<i>Fango em maturação</i>	De acordo	De acordo	De acordo
<i>Fango maturado</i>	De acordo	De acordo	De acordo

5.7. Especificações do Produto Final da Maturação - Fango

ANÁLISE	ESPECIFICAÇÃO
Características organolépticas	Cor: negra Odor: característico de enxofre Aspecto: suspensão que sedimenta no repouso e dispersa com agitação manual facilmente.
Solubilidade	Insolúvel em água
pH em solução de CaCl_2 0,01M	8,5 e 9,5
Densidade	1,08 (variação de $\pm 10\%$).
Metais pesados	Máximo 10ppm (Pb)
Micronutrientes	Ferro: 978,0 a 26500,0 mg/kg Zinco: 13,0 a 25,0 mg/kg Cobre: 2,0 a 80,0 mg/kg Enxofre: min 0,05% p/p Boro: 5,0 a 25,0 mg/kg Manganês 2,0 a 45,0 mg/kg
Teor de <i>Matéria Orgânica Compostável</i> :	Mínimo 25%
<i>Granulometria</i> : <i>Carbono orgânico</i> :	Média arenosa Mínimo 12%
<i>Microrganismos totais</i> :	Máximo 5×10^3 UFC/g ou mL
<i>Microrganismos patogênicos</i> :	Ausentes
<i>Análise parasitológica</i>	Ausência de <i>Larva migrans</i>
Armazenamento e conservação	Armazenar em recipiente fechado e ao abrigo da luz e calor à temperatura de 22,0 e 25,0 °C

OBSERVAÇÃO

NÃO FOI AUTORIZADA A INCLUSÃO DO(S)
ARTIGO(S) NESTE ARQUIVO