

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GUARAPUAVA

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS NA
FRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO DE EFLUENTE DA
SUINOCULTURA SUBMETIDO A BIODIGESTÃO
ANAERÓBIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANDRÉ CESTONARO DO AMARAL

GUARAPUAVA – PR

2013

ANDRÉ CESTONARO DO AMARAL

**DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS NA FRAÇÃO
SÓLIDO-LÍQUIDO DE EFLUENTE DA SUINOCULTURA
SUBMETIDO A BIODIGESTÃO ANAERÓBIA**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual do Centro-
Oeste, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Química, área de concentração em
Química Aplicada, para a obtenção
do título de Mestre.

Profa. Dra. Karin Cristiane Justi (Orientadora)
Dr. Airton Kunz. (Co-orientador)

GUARAPUAVA - PR

2013

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da UNICENTRO, Campus Guarapuava

A485d Amaral, André Cestonaro do
Distribuição de espécies metálicas na fração sólido-líquido de efluente da
suinocultura submetido a biodigestão anaeróbia / André Cestonaro do Amaral.
-- Guarapuava, 2013
xiii, 59 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, 2013

Orientadora: Karin Cristiane Justi

Co-orientador: Airton Kunz

Banca examinadora: Adeldo Lowe Pletsch, Edgard Moreira Ganzarolli

Bibliografia

1. Química aplicada. 2. Efluente da suinocultura. 3. Biodigestão
anaeróbia. 4. Metais. 5. Biodisponibilidade. I. Título. II. Programa de Pós-
Graduação em Química Aplicada .

CDD 542

ANDRÉ CESTONARO DO AMARAL

**DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS NA FRAÇÃO SÓLIDO-
LÍQUIDO DE EFLUENTE DA SUINOCULTURA SUBMETIDO A
BIODIGESTÃO ANAERÓBIA**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual do Centro-
Oeste, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Química, área de concentração em
Química Aplicada, para a obtenção
do título de Mestre.

Aprovado em

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Profa. Dra. Karin Cristiane Justi
(Orientadora)

Dr. Airton Kunz
(Co-orientador)

GUARAPUAVA - PR

2013

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Armando, minha mãe Nádia, e meu irmão Bruno pelo apoio e incentivo que a mim depositaram.

À Ketlen pelo carinho, companheirismo, apoio e compreensão nos momentos de ausência.

Aos orientadores, Dra Karin Cristiane Justi e Dr. Airton Kunz, pela orientação, apoio no desenvolvimento do trabalho, enorme contribuição com o meu aprendizado e amizade.

Aos funcionários da Embrapa Suínos e Aves e aos professores e funcionários do departamento de pós-graduação em Química da Unicentro, pelo apoio para a realização do trabalho e principalmente pela contribuição para o aprendizado.

Ao pessoal do laboratório LEAA – Embrapa Suínos e Aves, fundamentais na realização dos experimentos.

À todos MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO.....	2
2.1.1. Objetivos Específicos.....	2
3. REFERENCIAL TEÓRICO	3
3.1. Suinocultura industrial	3
3.2. Biodigestão Anaeróbia	4
3.2.1. Parâmetros que afetam o processo	6
3.2.2. Biogás.....	7
3.3. Metais na biodigestão anaeróbia	8
3.4. Metais na suinocultura	10
3.5. Especificação Química Sequencial.....	11
3.5.1. Método BCR	14
3.5.2. Frações de interesse ambiental	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. Local de realização dos experimentos e Amostragem	21
4.2. Progressão de carga em sólidos voláteis	22
4.3. Determinações analíticas.....	23
4.3.1. Produção de biogás.....	23
4.3.2. Determinação da composição do Biogás.....	23
4.3.3. Determinação de sólidos (ST, SV e SF).....	24
4.3.4. Determinação de Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	24
4.3.5. Carbono Total (CT), Carbono Inorgânico (CI), Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT)	24
4.3.6. Especificação química dos metais	25
4.3.7. Quantificação de metais totais.....	26
4.4. Limites de detecção e quantificação.....	26
4.5. Análise estatística.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1. Estudo das relações entre Carbono Orgânico Total (COT) x Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Carbono Orgânico Total (COT) x Sólidos Voláteis	29
5.2. Caracterização do dejetos suíno.....	32
5.3. Remoção de DQO	34
5.4. Remoção de sólidos voláteis e capacidade de produção de biogás.....	35

5.4.1. Composição do biogás produzido	37
5.5. Metais em dejetos suínos.....	39
5.5.1. Concentração total.....	39
5.5.2. Fracionamento e recuperação.....	41
5.6 Comparação do processo de extração química sequencial BCR original e modificado para fracionamento de cobre e zinco em EB e ET	46
6. CONCLUSÕES.....	48
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Etapas subsequentes do processo de biodigestão anaeróbia. Adaptado de Chernicharo, (2007). 5
- Figura 2.** Relação entre mobilidade do metal em diferentes fases e forças de extração dos reagentes químicos comumente utilizados em extrações sequenciais. Adaptado de Filgueiras *et al.*, 2002. 13
- Figura 3.** Diagrama esquemático do biodigestor BioKöhler® de fluxo ascendente, onde são representados no ponto 1- local de amostragem do efluente bruto (EB), ponto 2 - local de amostragem do efluente tratado (ET), ponto 3- sistema de aquecimento, ponto 4 -descarte de lodo, ponto 5 sistema de circulação de lodo e ponto 6 - saída do biogás gerado. 22
- Figura 4.** Esquema da extração química sequencial de cobre e zinco em dejetos suíno, utilizando método BCR original e modificado, com adição da fração solúvel em água. 25
- Figura 5.** Relação entre DQO e COT em dejetos suíno. 29
- Figura 6.** Relação entre SV e COT em dejetos suíno. 31
- Figura 7.** Acompanhamento de carbono total (CT), carbono inorgânico (CI), carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) em dejetos suíno antes da entrada no biodigestor (EB). 33
- Figura 8.** Acompanhamento da demanda química de oxigênio (DQO) na entrada (EB) e na saída do biodigestor (ET) durante as três etapas do experimento. 34
- Figura 9.** Carga de sólidos voláteis (SV) na entrada e removida no biodigestor durante as três etapas do estudo. 36
- Figura 10.** Caracterização do biogás produzido; metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e sulfeto de hidrogênio (H₂S) durante as três etapas do trabalho. 38
- Figura 11.** Distribuição de zinco e cobre nas cinco diferentes frações da especiação química durante as três etapas de progressão de carga. 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Papel de alguns elementos traços essenciais em varias enzimas envolvidas em reações anaeróbias.	8
Tabela 2. Descrição das três etapas do estudo, com as respectivas vazões de alimentação, TRH e carga estimada de sólidos voláteis (SV).	22
Tabela 3. Valores de LD e LQ encontrados para zinco e cobre em diferentes solventes.	27
Tabela 4. Resultado comparativo entre valores reais de COT e DQO e valores estimados de DQO em dejetos suíno.	30
Tabela 5. Resultado comparativo entre valores reais de COT e SV e valores estimados de SV para dejetos suíno.	32
Tabela 6. Valores médios de carbono e nitrogênio encontrados em análises de dejetos suíno bruto (EB) e seus desvios padrão, com n= 21.	33
Tabela 7. Carga média de entrada e removida, porcentagem de remoção de SV e seus intervalos de confiança e a capacidade máxima de geração de biogás durante as três etapas do experimento.	36
Tabela 8. Concentração total de zinco e cobre em EB e ET, durante as 3 etapas do experimento.	39
Tabela 9. Fracionamento de zinco e cobre em EB e ET e suas respectivas porcentagens de recuperação, durante as 3 etapas de progressão de carga.	42
Tabela 10. Concentração total de Zn e Cu e seu intervalo de confiança padrão em dejetos suíno EB e ET.	46
Tabela 11. Fracionamento de Zn (mg.L^{-1}) em dejetos EB e ET.	46
Tabela 12. Fracionamento de Cu (mg.L^{-1}) em dejetos EB e ET.	47

LISTA DE ABREVIATURA

BA: Biodigestão anaeróbia

BCR: Community bureau of reference

CI: Carbono inorgânico

CMGB: Capacidade máxima de geração de biogás

COT: Carbono orgânico total

CT: Carbono total

CRM: Certificado do material de referencia

DQO: Demanda química de oxigênio

EB: Efluente bruto

ET: efluente tratado

ETDS: Estação de tratamento de dejetos suíno

K_{ps} : Constante produto solubilidade

NT: Nitrogênio total

P-RedOx: Potencial de redução oxidação

SEP: Substâncias extracelulares poliméricas

SF: Sólidos fixos

ST: Sólidos totais

SV: Sólidos voláteis

TE: Tanque de equalização

TRH: Tempo de retenção hidráulico

UASB: *Upflow anaerobic sludge blanket*

RESUMO

A suinocultura industrial tem como característica a geração de significativas quantidades de efluente, que se não forem gerenciados corretamente podem causar diversos problemas ambientais. O processo de biodigestão anaeróbia se apresenta como uma etapa importante e de baixo custo para o tratamento eficiente na redução da matéria orgânica. O impacto do processo de biodigestão anaeróbia na biodisponibilidade de cobre e zinco em dejetos suínos foi avaliado através da aplicação de um esquema de especiação química sequencial em dejetos brutos e biodigeridos. Neste trabalho foi utilizado o método proposto pela *Community Bureau of Reference* (BCR), acrescido de duas frações, dividindo os metais em solúveis em água (fração 1), trocáveis (fração 2), redutíveis (fração 3), oxidáveis (fração 4) e residuais (fração 5). O objetivo do trabalho foi estudar o processo de biodigestão anaeróbia e sua influência na biodisponibilidade de cobre e zinco em águas residuais da suinocultura, através de uma progressão de carga orgânica de alimentação do biodigestor em 0,5 (etapa 1), 1,0 (etapa 2) e 1,5 (etapa 3) $\text{KgSV}\cdot\text{m}^{-3}$, respectivamente e a especiação dos metais utilizando protocolo BCR original. Também foi estudada a utilização do método BCR e modificado para especiação de metais em efluente da suinocultura. Este modelo de biodigestor mostrou ser bastante eficaz e robusto no tratamento de efluentes da suinocultura, atingindo boa eficiência na remoção de sólidos voláteis em todas as etapas de progressão de carga (etapa 1: 61,38%, etapa 2: 55,18% e etapa 3: 43,18%). A produção de biogás apresentou uma relação direta com o aumento de carga orgânica atingindo 0,14, 0,85 e 0,87 $\text{Nm}^3\cdot\text{KgSV}_{\text{adic.}}^{-1}$, não havendo diferença significativa ($p < 0,05$) na porcentagem de metano no biogás produzido, sendo de 73,72, 75,00 e 77,92% respectivamente nas etapas 1, 2 e 3. As concentrações de cobre determinadas no efluente após biodigestão anaeróbia durante as três etapas (0,930, 0,759 e 1,070 $\text{mg Cu}\cdot\text{g}^{-1}$) foram inferiores ao permitido pela legislação brasileira, 1,5 $\text{mg Cu}\cdot\text{g}^{-1}$ (resolução CONAMA 375) para utilização como fertilizante agrícola. Já as concentrações de zinco durante as três etapas (6,578, 5,658 e 7,547 $\text{mg Zn}\cdot\text{g}^{-1}$) foram superiores ao permitido (2,8 $\text{mg Zn}\cdot\text{g}^{-1}$). As etapas da progressão de carga causaram mudanças na distribuição de Cu e Zn em diferentes frações no dejetos suínos. Ocorreu diminuição dos metais contidos nas frações mais biodisponíveis (frações 1, 2 e 3) e aumentando nas mais estáveis (fração 4) durante as etapas 1 e 2. Durante a etapa 3 pouca alteração na distribuição foi observada. A

utilização do método BCR modificado não apresentou vantagens sobre o método BCR original em especiação de cobre e zinco em dejetos suínos.

Palavras-chaves: Efluente da suinocultura, biodigestão anaeróbia, metais, biodisponibilidade.

ABSTRACT

The industrial swine production is characterized by the significant amounts of effluent generation, when not managed properly can cause many environmental problems. The anaerobic biodigestion process is presented as an important and low cost treatment step for reduction of organic matter. The impact of anaerobic biodigestion on the bioavailability of copper and zinc in swine manure was evaluated by sequential chemical speciation scheme, applying in raw and digested manure. In this study, was used the method proposed by the Community Bureau of Reference (BCR), plus two fractions, dividing the metals in: water soluble (step 1), exchangeable (step 2), reducible (step 3), oxidizable (step 4) and residual (step 5). The aim of this study was investigate the influence of feed organic load in biodigester capacity of organic matter degradation, biogas production, biogas quality and its influence on the metals distribution in swine wastewater, through the load organic progression to 0.5 (phase 1), 1.0 (phase 2) and 1.5 (phase 3) KgVS.m⁻³ respectively. The use of original and modified BCR method for speciation of metals in swine effluent were also studied. The evaluated biodigestion process was effective for swine wastewater treatment, achieving good efficiency to removed volatile solids in all stages of organic load progression (phase 1: 61.38%, phase 2: 55.18%, phase 3: 43.18%). The biogas production showed direct relationship with the increasing of organic load, reaching 0.14, 0.85 and 0.87 Nm³.KgVS_{add}, without any significant difference (p<0.05) in the percentage of methane in biogas, begin 73.72, 75.00 and 77.92 %, respectively in phases 1, 2 and 3. The copper concentration in the swine effluent in digested manure for three phases (0.930, 0.759 and 1.070 mg Cu.g⁻¹) were lower than permitted by Brazilian legislation, 1.5 mgCu.g⁻¹.(CONAMA Resolution 375) to use as agricultural fertilizer. As for the zinc concentration during the three phases (6.578, 5.658 and 7.547 mgZn.g⁻¹) were higher than those permitted (2.8 mgCu.g⁻¹). The phases of load organic progression caused changes in the Cu and Zn distribution on different fractions in swine manure. There were a decrease of metals contained in most bioavailable fractions (steps 1, 2 and 3) and increasing in more environmental stable fraction (step 4), during phases 1 and 2. During phase 3, were observed few alterations in metals distributions. Use of modified BCR method showed no advantages over the original BCR by copper and zinc speciation in swine manure.

Key words: Swine wastewater, anaerobic biodigestion, metals, bioavailability.

"A natureza não é cruel, apenas implacavelmente indiferente. Essa é uma das lições mais duras que os humanos têm de aprender."

Richard Dawkins

1. INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade de destacada importância na região sul do Brasil, onde gera empregos, renda e proporciona sustentabilidade a um parque agroindustrial competitivo no cenário nacional e internacional. Para alavancar este parque agroindustrial foi determinante a implementação de sistemas de produção intensiva de animais confinados, empregando as mais modernas técnicas no que se refere à seleção genética, ao manejo do plantel e ao padrão sanitário (SEGANFREDO, 2007).

O modelo de produção intensiva de suínos gera grandes quantidades de efluente que necessitam de alguma forma de tratamento. O processo de biodigestão anaeróbia surge como uma etapa importante e barata para o tratamento com vistas à redução da matéria orgânica, gerando produtos como biogás e biofertilizante. O biogás pode ser utilizado para obtenção de calor, eletricidade, créditos de carbono, etc.. O digestato pode ser utilizado na agricultura como fertilizante, ou submetido a etapas adicionais de tratamento (KUNZ *et al.*, 2009 a).

Dentre uma enorme variedade de metais presentes no dejetos suíno, cobre e zinco são encontrados em altas concentrações devido a sua adição na dieta suínica. A deficiência de absorção de nutrientes pelos suínos resulta em altas concentrações no efluente da cadeia produtiva. A forma com que os metais interagem com o meio ambiente não pode ser prevista apenas com análises de sua concentração total. A fim de obter informações sobre a disponibilidade e toxicidade dos metais em diversos ambientes, utilizam-se métodos de especiação química sequencial.

Desta forma, neste trabalho se investigou as transformações que ocorrem com o efluente suínico quando submetido a biodigestão anaeróbia. Buscou-se informações sobre produção de biogás e estabilização do dejetos suíno no que diz respeito a degradação da matéria orgânica e a alterações da distribuição de cobre e zinco em diferentes frações de interesse ambiental, através de progressão de carga orgânica. Investigou-se Cu e Zn, por serem metais com funções nutricionais importantes, e serem encontrados em altas concentrações no efluente suínico (Steinmetz *et al.*, 2009)

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Estudar o processo de biodigestão anaeróbia e sua influência na biodisponibilidade de cobre e zinco em águas residuais da suinocultura.

2.1.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a relação de progressão de carga de alimentação do biodigestor com a capacidade de estabilização de matéria orgânica e produção de biogás;
- Especiar os metais distribuídos em diferentes frações do afluente e efluente do biodigestor com diferentes condições de operação;
- Realizar ensaios de recuperação dos metais especiados;
- Comparar a especiação obtida com os métodos BCR original e modificado;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Suinocultura industrial

A suinocultura é uma atividade de grande importância econômica para o Brasil, porém apresenta um grande potencial poluidor. Têm passado por consideráveis mudanças de escala de produção nas últimas décadas, pois, até meados de 1970 a geração de efluentes não era considerado um fator preocupante, uma vez que a produção era principalmente de subsistência e os dejetos gerados eram simplesmente dispostos no solo (SEGANFREDO, 2007). Os problemas ambientais intensificaram-se com a profissionalização do setor produtivo, empregando um modelo de confinamento dos animais em unidades restritas, o que resulta em uma grande quantidade de suínos em pequenas áreas territoriais, gerando quantidades apreciáveis de efluentes (KUNZ *et al.*, 2009 a).

A suinocultura industrial brasileira se desenvolveu significativamente nas últimas décadas, fazendo com que o Brasil atinja status de grande produtor mundial. Atualmente, o plantel brasileiro é de 38,9 milhões de cabeças de suínos, que se encontra em todas as regiões do país, sendo que a maior concentração na região sul (47,9%), seguido da região Sudeste (18,3%), Nordeste (15,9%), Centro-Oeste (13,8%) e Norte (4,1%) (IBGE, 2012).

Os principais impactos causados ao meio ambiente pela produção intensiva de suínos são decorrentes do grande volume de efluentes gerados e de sua composição, que podem variar de acordo com a fase de crescimento e dieta alimentar. Estes rejeitos apresentam elevadas cargas orgânicas, nutrientes e metais, tendo elevado potencial poluidor (STEINMETZ *et al.*, 2009 a). Com isso, cria-se a necessidade de novas estratégias de manejo, quando comparadas com as adotadas atualmente, que são o armazenamento e uso agrícola, principalmente em áreas de grande densidade de produção animal (KUNZ *et al.*, 2009 b).

Várias são as alternativas disponíveis para o tratamento de efluentes com alta concentração orgânica, sendo a biodigestão anaeróbia uma tecnologia bastante competitiva (LEE *et al.*, 2009), e com grande aceitação por parte dos usuários. Dentre as vantagens da técnica, destacam-se baixo custo de implementação, operação e manutenção e a possibilidade de utilização do biogás produzido como fonte de energia

elétrica, calor e também a inserção no mercado de carbono. Os efluentes gerados apresentam nutrientes prontamente disponíveis, que podem ser utilizados como biofertilizantes ou, na ausência de área disponível para sua aplicação, serem submetidos a etapas adicionais de tratamento (APPELS et al 2008, JINGURA & MATENGAIFA, 2009).

3.2. Biodigestão Anaeróbia

A biodigestão anaeróbia (BA) de matéria orgânica basicamente segue: hidrólise acidogênese, acetogênese e metanogênese como mostrado na Figura 1. A BA é um processo complexo que requer condições rigorosamente anaeróbias para ocorrer (potencial de redução oxidação (P-RedOx) < - 200 mV), e depende da atividade conjunta de uma associação de micro-organismos bastante complexa para transformar material orgânico em dióxido de carbono e metano. Apesar de etapas sucessivas, a hidrólise geralmente é considerada a etapa limitante de velocidade (AQUINO & STUCKEY, 2008).

A etapa da hidrólise degrada desde materiais orgânicos insolúveis à compostos de alta massa molecular como os lipídios, polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, em substâncias orgânicas solúveis (aminoácidos e ácidos graxos). Os componentes formados durante a hidrólise são ainda mais divididos durante a acidogênese, que é a segunda etapa. Ácidos graxos voláteis são produzidos pelas bactérias acidogênicas juntamente com amônia, dióxido de carbono, sulfeto de hidrogênio e outros produtos secundários (TABATABAEI *et al.*, 2010).

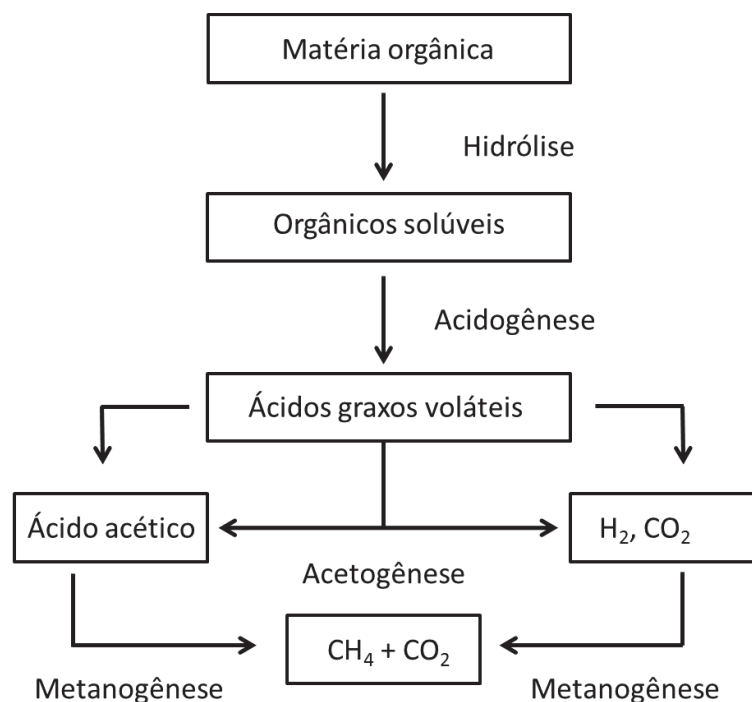


Figura 1. Etapas subsequentes do processo de biodigestão anaeróbia. Adaptado de Chernicharo, (2007).

O terceiro estágio da BA é acetogênese, onde os ácidos graxos e álcoois produzidos pelas bactérias acidogênicas são ainda mais digeridos para produzir principalmente ácido acético, dióxido de carbono e hidrogênio. Esta conversão é controlada em grande parte pela pressão parcial do hidrogênio no meio reacional (APPELS *et al.*, 2008).

A etapa final ou metanogênese ocorre quando os micro-organismos metanogênicos produzem metano através de dois grupos de arqueas metanogênicas: o primeiro grupo degrada acetato em metano e dióxido de carbono (metanogênicas acetoclásticas), já o segundo grupo usa o hidrogênio como doador de elétron e dióxido de carbono como acceptor para produzir metano (metanogênicas hidrogenotróficas) (CHERNICHARO, 2007).

Na presença de compostos com enxofre, surge a etapa da sulfetogênese. Nesta etapa, sulfatos, sulfitos e outros compostos sulfurados serão reduzidos a sulfeto, durante a oxidação de compostos orgânicos através da ação das bactérias redutoras de sulfato. Ao utilizarem compostos com enxofre, como receptores de elétrons, essas bactérias competem por substrato com as arqueas metanogênicas, com ácidos graxos voláteis, hidrogênio, metanol, etanol, glicerol, açúcares, aminoácidos entre outros. Por utilizarem compostos intermediários da biodigestão anaeróbia, elas alteram a rota do metabolismo,

gerando menor quantidade de metano na constituição do biogás (CHERNICHARO, 2007).

3.2.1. Parâmetros que afetam o processo

Em ambientes anaeróbios vários parâmetros importantes afetam a eficiência das diferentes etapas do processo de biodigestão, por exemplo, pH, alcalinidade, temperatura e tempo de retenção hidráulico (TRH).

Cada grupo de micro-organismo tem um valor diferente de pH ótimo. As arqueas metanogênicas são extremamente sensíveis ao pH, com um valor ótimo entre 6,5 e 7,2 (BOE, 2006). Os micro-organismos fermentativos são um pouco menos sensíveis e podem se adaptar a maiores variações de pH, entre 4,0 e 8,5 (HWANG *et al.*, 2004). Em baixos valores de pH os principais produtos são os ácidos acético e butírico, enquanto que a pH próximos a 8,0, os principais produtos são os ácidos acético e propiônico (BOE, 2006). Os ácidos graxos voláteis produzidos durante a BA tendem a reduzir o pH do meio. Esta redução é normalmente combatida pela atividade das arqueas metanogênicas, que também produzem alcalinidade na forma de dióxido de carbono, amônia e bicarbonato. O pH do sistema é controlado pela concentração de dióxido de carbono na fase gasosa e HCO_3^- -alcalino na fase líquida (TUROVSKIY & MATHAI, 2006).

A temperatura tem efeitos importantes nas propriedades físico-químicas de componentes encontrados nos substratos anaeróbios. Também influencia a velocidade de crescimento e metabolismo dos micro-organismos e com isso a dinâmica populacional em um biodigestor. As arqueas metanogênicas acetoclásticas são o grupo mais sensível ao aumento de temperatura. A temperatura tem um efeito significativo na pressão parcial de hidrogênio em um biodigestor, portanto influencia a cinética do metabolismo sintrófico. Termodinamicamente observa-se que as reações endergônicas (em condições padrão), por exemplo, a quebra do propionato em acetato, dióxido de carbono e hidrogênio, se tornaria energeticamente mais favorável em altas temperaturas, entretanto quando as reações são exergônicas (ex. metanogênicas hidrogenotróficas) são menos favorecidas em altas temperaturas (REHM *et al.*, 2000). Um aumento de temperatura tem inúmeros benefícios, incluindo um aumento na solubilidade de

compostos orgânicos, melhorando as velocidades de reações biológicas e químicas, também um aumento na taxa de eliminação de patógenos (SOUZA *et al.*, 2005).

O TRH é o tempo médio que o efluente a ser tratado permanece no biodigestor. As etapas subsequentes do processo de biodigestão anaeróbia são diretamente relacionadas com o TRH. Cada vez que o efluente é retirado do biodigestor, uma fração da população de micro-organismos presentes é arrastada junto, deste modo implica no crescimento celular, o qual deve pelo menos compensar a perda de células a fim de assegurar o estado estável e evitar a falência do processo (HORI *et al.* 2006). Em reatores com alimentação contínua, a carga orgânica aplicada ao biodigestor está vinculada ao tempo de retenção hidráulico. As alterações de TRH afetam o tempo de disponibilidade entre os substratos e os micro-organismos anaeróbios, sendo esse fator crucial na tentativa de maximizar a atividade metanogênica (KIM *et al.*, 2012).

3.2.2. Biogás

O biogás é produzido durante o processo de biodigestão anaeróbia, sendo formado basicamente por metano, CO₂ e pequenas concentrações de nitrogênio, oxigênio e H₂S, além de traços de hidrocarbonetos voláteis. Em termos gerais, a sua composição varia entre 50 e 90% de metano e de 10 a 50% de gás carbônico (RASI *et al.*, 2007).

A densidade do biogás, assim como sua capacidade calorífica, varia com a sua composição. Quanto maior a concentração de metano no biogás, maior será seu poder calorífico e menor sua densidade. As características do biogás dependem da pressão, temperatura, umidade, concentração de metano e concentração de gases inertes e/ou ácidos. Pode ser usado nas condições em que é gerado e, dependendo da aplicação, pode ser necessária a redução da concentração de H₂S, CO₂, redução da umidade ou mesmo a elevação da pressão (COSTA *et al.*, 2006).

Segundo Diaz *et al.*, (2010), a presença de H₂S no biogás o torna mais corrosivo e influencia negativamente a qualidade do mesmo. Tem-se a necessidade da remoção deste gás quando a intenção é utiliza-lo na produção de energia elétrica, pois pode causar corrosão de partes metálicas em motores por emissão de SO₂ gerados na combustão, especialmente quando o motor não é operado continuamente, bem como para evitar concentrações tóxicas de H₂S/SO₂ no local de trabalho (PIPATMANOMAI *et al.*, 2009; LIN *et al.*, 2012).

Com poder calorífico inferior (PCI) em torno de 19500 KJ/Kg, o biogás constitui-se como uma boa fonte de energia (LIMA, 2005). A combustão de 1m³ de biogás libera 23400 KJ de calor. Comparando com outros combustíveis, 1m³ de biogás equivale a 0,61 L de gasolina, 0,55 L de óleo diesel, 1,54 kg de lenha e 1,43 Kw de eletricidade (GASPAR, 2003).

3.3. Metais na biodigestão anaeróbia

Os metais são importantes em todos os processos bioquímicos, em qualquer tipo de organismo vivo. Dentre 95 elementos da tabela periódica que ocorrem naturalmente, mais de 25 apresentem função biológica essencial (FRANZLE & MARKERT, 2002). Alguns deles, por exemplo, cobre, cobalto, níquel e zinco são requeridos em muitos organismos em pequenas quantidades, sendo denominados micronutrientes. A maioria deles fazendo parte do sitio ativo de enzimas, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Papel de alguns elementos traços essenciais em varias enzimas envolvidas em reações anaeróbias.

Elemento	Enzima
Cobre	Superóxido dismutase; Hidrogenase; Nitrito redutase; Acetil CoA sintetase.
Cobalto	Co-enzima B ₁₂ ; Desidrogenase; Metiltransferase;
Níquel	CO- desidrogenase; Acetil CoA sintetase; Metil CoM redutase; Urease; Hidrogenase;
Zinco	Hidrogenase; Formato desidrogenase; Superóxido dismutase;

Adaptado de Fermoso *et al.*, 2009.

A presença de altas concentrações de metais no meio líquido de um biodigestor anaeróbio não significa que os micro-organismos vão absorvê-los e incorpora-los nos

centros catalíticos de suas enzimas (ERMLER, 2005). Por exemplo, micro-organismos absorvem metais também nas formas complexas, como Vitamina B₁₂, Co-Citrato ou sideróforos. No geral, o verdadeiro efeito biológico dos metais em um meio anaeróbio é regido pelos processos de complexação, como bioabsorção e biossíntese (FERMOSO *et al.*, 2009).

Alguns metais, em determinadas concentrações, agem como inibidores, bloqueando funções enzimáticas. O tipo de inibição é caracterizado pela blindagem reversível do inibidor em alguma enzima ou substrato enzimático complexo. Menos frequentemente, os metais agem como inibidores competitivos (competindo com o substrato). Esse tipo de inibição depende da afinidade entre o metal e a enzima, bem como com a concentração do metal no meio (OLESZKIEWICZ & SHARMA, 1990).

Vários estudos confirmam a forte interação de íons metálicos em grânulos anaeróbios devido à precipitação, co-precipitação, adsorção e ligação por substâncias extracelulares poliméricas (SEP) e células bacterianas. SEP são os principais componentes da matriz granular, mais de 90% da biomassa seca (YU *et al.*, 2013). Além disso, a interface bacteriana pode servir como uma importante superfície de ligação para metais em solução (FERMOSO *et al.*, 2009).

Análises de raios-X de grânulos de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tipo UASB (*Upflow anaerobic sludge blanket*) tem confirmado a existência de cobre, ferro, zinco e níquel precipitados como sulfeto (GONZALEZ-GIL *et al.*, 2001). A biodisponibilidade e mobilidade de metais em reatores anaeróbios são sobretudo, controladas pela presença de sulfetos (VAN DER VEEN *et al.*, 2007). Como sulfetos metálicos apresentam produto de solubilidade (K_{ps}) muito pequeno, é esperado que esses metais não se encontrem biodisponíveis ao consórcio de micro-organismos metanogênico, uma vez que uma grande quantidade de H₂S é gerada pelo processo de biodigestão anaeróbia (GONZALEZ-GIL *et al.*, 2003).

A biodisponibilidade dos metais em ambientes anaeróbios pode ser avaliada através de especiação química sequencial com diferentes solventes. As frações possuem uma solubilidade/reactividade decrescente da primeira para última etapa de extração. Essa diminuição de solubilidade é utilizada para estimar o potencial de biodisponibilidade, começando com a fração trocável, mais biodisponível, fração de carbonato, fração de matéria orgânica/sulfeto e por último a fração residual, menos biodisponível (JONG & PARRY, 2004).

Os metais em concentrações elevadas podem causar inibição do processo metanogênico (RAM *et al.*, 2000). Embora a toxicidade dos metais em ambientes anaeróbios tenha sido bastante estudada, os relatos de concentração tóxica variam consideravelmente por diferentes autores (LIN & CHEN, 1997, 1999; KARRI *et al.*, 2006). Isso é devido ao fato de que muitos autores relatam apenas a concentração total do metal e não consideram a sua distribuição por diferentes fases. Por esse motivo, as concentrações tóxicas observadas são afetadas por diferentes composições do afluente, os quais apresentam diferenças na distribuição dos metais (WORMS *et al.*, 2006; JANSEN *et al.*, 2007).

3.4. Metais na suinocultura

Em análises feitas com o dejetos suíno bruto, Steinmetz *et al.*, (2009 a) encontraram quantidades consideráveis de alguns metais como Cu, Mn, Fe e Zn. Esses metais provêm principalmente da ração animal, devido ao grande número de sais inorgânicos adicionados a dieta, não somente como nutrientes, mas também como suplementos para melhorar a saúde e acelerar o crescimento do suíno.

Os microminerais desempenham um papel importante na formação óssea e manutenção da integridade do esqueleto de reprodutores. O zinco e o cobre são fundamentais para a adequada formação do colágeno, uma proteína estrutural que dá força aos tecidos ósseos, dentre outros (ESQUERRA *et al.*, 2011).

O zinco é componente de várias enzimas e desempenha vários papéis no metabolismo de proteínas, carboidratos, e lipídeos. O Zn na forma de sulfato ou óxido a 100 mg.Kg⁻¹ é adicionado na dieta de suínos. Em níveis farmacológicos (2000 a 3000 mg.Kg⁻¹) o óxido de zinco (ZnO) é adicionado a alimentação de leitões desmamados afim de prevenir diarreia e promover o crescimento. A adição de Zn na alimentação de animais adultos está relacionada a melhoras no sistema reprodutivo (GAUDRÉ & QUINIOU, 2009). A retenção de zinco pelos suínos é de apenas 22 mg.Kg⁻¹ de peso corporal. Assim, grande parte do zinco ingerido é excretado nas dejeções (DOURMAD *et al.*, 2002).

A adição de cobre na ração de suínos está relacionada com incrementos na defesa do organismo contra o stress oxidativo, necessidade para a síntese de hemoglobina, e seu papel importante no sistema imune. Embora o requisito do suíno seja inferior a 10

mgCu.Kg⁻¹ de ração, a suplementação de costume em dietas de leitões chega a níveis de 150 mg.Kg⁻¹, devido a um efeito promotor de crescimento durante este estágio de crescimento. A retenção de cobre é inferior a 2 mg.Kg⁻¹ de peso corporal (JONDREVILLE *et al.*, 2002). Portanto, a quase totalidade do cobre ingerido é então excretada. O cobre é normalmente fornecido sob a forma de sulfato de cobre (CuSO₄) (DOURMAD *et al.*, 2002).

Uma grande parcela dos metais ingeridos é excretada através de fezes e urina, pois os suínos possuem baixa eficiência de absorção alimentar. (BOLAN *et al.*, 2004). Este fato é evidenciado por Adeola *et al.* (1995), onde encontraram valores de relação entre os metais excretado e ingerido equivalentes a 77,3% (Cu) e 69,8% (Zn).

Estudos da área de nutrição animal têm encontrado algumas alternativas para reduzir a concentração de Cu e Zn nas dietas e manter o efeito esperado sobre os animais. Trata-se especialmente da utilização de “complexos metal-aminoácidos”. Estes complexos aumentam a eficiência desses metais e são vistos como uma alternativa para a redução dos níveis desses elementos nas dietas, com conseqüente redução nos dejetos. Entretanto, além de necessitar maiores estudos, apresentam maiores custos em relação a utilização de sais inorgânicos de Cu e Zn (SUN *et al.*, 2012).

3.5. Especificação Química Sequencial

O comportamento ambiental de metais potencialmente tóxicos depende da forma em que eles se encontram no ambiente. A forma com que um metal está ligado a um componente sólido, como em solos ou materiais sedimentares, influencia na mobilidade e intimamente na biodisponibilidade e toxicidade a organismos vivos (BACON *et al.*, 2008).

O uso de técnicas de especificação químicas sequenciais pode proporcionar informações detalhadas sobre origem, modo de ocorrência, disponibilidade biológica e físico-química, mobilização e transporte de metais. Experimentos de especificação química sequencial têm sido apresentados para fornecer um meio conveniente de determinar metais associados com as principais frações de interesse ambiental, presentes nos mais diversos ambientes (URE *et al.*, 2001).

O fracionamento é sempre fornecido por uma técnica sequencial de extração química seletiva (URE *et al.*, 2001). O termo “especificação” tem sido definido como

processo de quantificação e identificação de diferentes espécies metálicas, formas ou fases de um elemento presente em uma amostra (URE *et al.*, 1995). O objetivo principal de técnicas de especiação é solubilizar o metal ligado a uma fase sólida utilizando determinados reagentes em etapas sequencias. A concentração do metal obtida em cada fração é subsequentemente determinada por uma técnica analítica conveniente, como espectrometria de absorção atômica com chama, espectrometria de absorção atômica eletrotérmica, espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado, polarografia, etc.(KUNZ & JARDIM, 2000; FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Íons metálicos em amostras de interesse ambiental são particionados em diferentes fases, entre elas: associados à matéria orgânica, óxidos hidratados de ferro, alumínio e manganês, minerais filossilicatos, carbonatos e sulfetos. Esses íons são retidos sobre fases sólidas por diferentes mecanismos (troca iônica, adsorção, precipitação ou co-precipitação) (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Esquemas de especiação química sequencial fazem uso de reagentes aplicando-os em uma dada sequencia a amostra. O número de etapas e a escolha destes reagentes dependem dos objetivos e das características físicas da amostra. A escolha do tipo de reagente pode ser estritamente relacionada com: (a) natureza do metal; (b) forma química do metal; (c) matriz a partir do qual os componentes devem ser extraídos; e (d) a técnica analítica disponível no laboratório para a determinação da concentração (FILGUEIRAS *et al.*, 2002)

Reagentes menos específicos podem extrair espécies presentes em outras fases. Em todos os esquemas, reagentes extratores são aplicados na ordem crescente de reatividade, de modo que as frações sucessivas obtidas correspondem às formas de metais associadas com fases mais móveis até as menos móveis (Figura 2). Os reagentes mais comumente utilizados em esquemas de extrações químicas sequenciais geralmente pertencem a os seguintes grupos: sais tampão, ácidos fracos, agentes redutores, agentes oxidantes e ácidos fortes (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

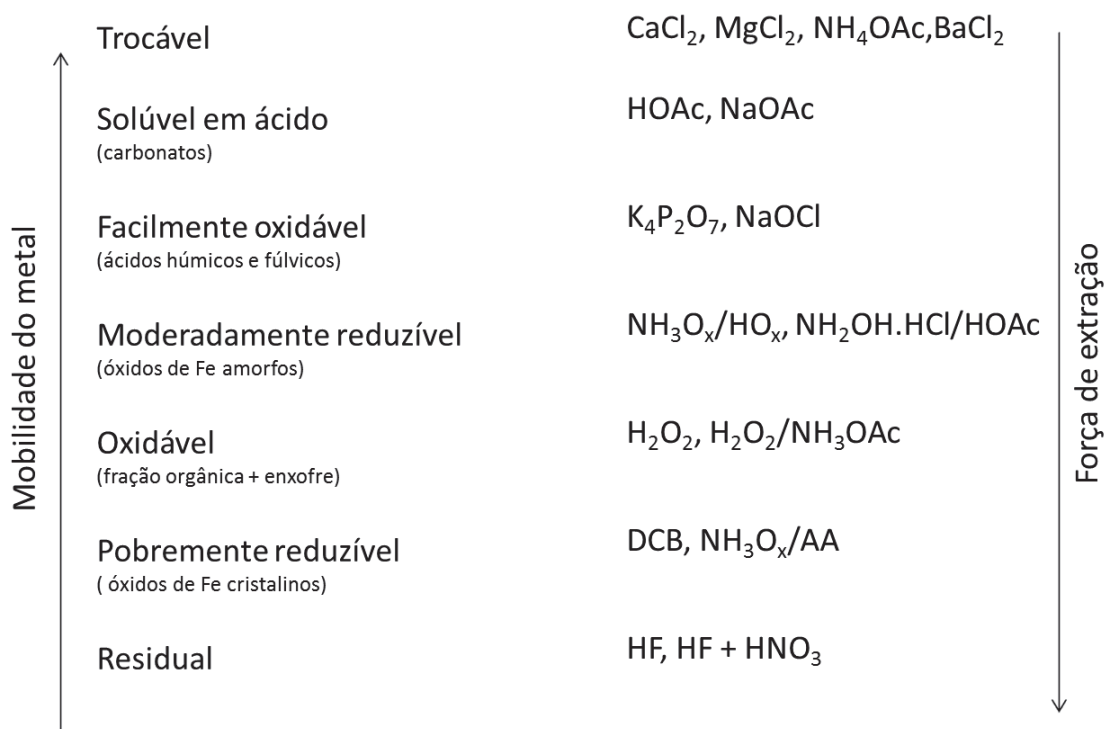


Figura 2. Relação entre mobilidade do metal em diferentes fases e forças de extração dos reagentes químicos comumente utilizados em extrações sequenciais. Adaptado de Filgueiras *et al.*, 2002.

O dejetto suíno é uma interface complexa contendo componentes orgânicos e inorgânicos, soluções e gases que reagem sob diferentes condições físico-químicas (p-RedOx, pH, etc.). A determinação de quantidades traços de metais em diferentes fases em um meio complexo é um desafio científico.

A fim de avaliar a mobilidade dos metais, vários esquemas de especiação química sequencial têm sido desenvolvidos. O número de etapas de extração varia de 3 etapas (URE *et al.*, 1993), 4 etapas (KIRATLI & ERGIN, 1996), 5 etapas (TISSIER *et al.*, 1979) e 6 etapas (KERSTEN & FORSTNER, 1986), e os processos de extração adotados apresentam diferentes resultados (ANJU & BANERJEE, 2010).

Os dois esquemas de especiação química sequencial mais utilizados são os propostos por Tissier *et al.*, (TISSIER *et al.*, 1979) e pela Community Bureau of Reference (BCR) (URE *et al.*, 1993), sendo modificados por vários autores (ETTLER *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2012).

3.5.1. Método BCR

Para avaliar o comportamento de metais presentes em diversas matrizes ambientais complexas vários esquemas de especiação química sequencial têm sido aplicados, entretanto os resultados obtidos pelas diferentes técnicas não eram comparáveis. Isso levou o *Community Bureau of Reference* (BCR) a desenvolver um protocolo de extração química sequencial com três etapas, com intuito de padronizar e harmonizar os resultados. O protocolo divide os metais em fases distintas, sendo elas: trocáveis ou ligado a carbonatos, reduzível (ligados a óxidos hidratados de Fe e Mn) e oxidável (ligados a matéria orgânica e sulfeto) (URE *et al.*, 1993).

O primeiro procedimento padrão de extração sequencial BCR foi desenvolvido para investigação de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn em sedimentos. Com o propósito de minimizar problemas de readsorção e co-precipitação, este método utiliza baixos valores de pH e alta proporção entre líquido/sólido. Utilizam-se solventes livres de íons metálicos a fim de simplificar a extração, além de empregar tempos de extração relativamente altos (URE *et al.*, 1993).

No entanto, durante a certificação do material de referência BCR CRM 601, ocorreu uma significativa variação nos resultados interlaboratoriais, em particular na etapa de extração da fração reduzível. Essa diferença nos resultados levou a uma completa revisão no protocolo, quando foi verificado o aumento da concentração de $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ e redução do pH, tendo como resultado o método BCR modificado (RAURET *et al.*, 2000). Essa melhora nos resultados é atribuída a dissolução mais eficiente da fração reduzível, provavelmente a ligada a óxidos hidratados de ferro (MASSOP *et al.*, 2002).

Nemati *et al.*, (2009) compararam os métodos original e modificado através de extração de Zn e Cu em lodo de tanques de produção de camarão, encontrando diferenças apenas na concentração de zinco porém não na de cobre. A mudança no procedimento de especiação química, do método BCR original (URE *et al.*, 1993) para o modificado (RAURET *et al.*, 2000) não tem efeito comum a todas as matrizes ambientais e metais.

3.5.2. Frações de interesse ambiental

A concentração total dos metais em amostras ambientais não nos fornece informações suficientes sobre o seu real impacto ao ambiente. Desta forma a investigação sobre a distribuição de íons metálicos em diferentes frações de interesse ambiental é importante, pois nos ajuda a tomar decisões sobre sua remediação.

Fração solúvel em água: Os metais traços extraídos com água são relativamente lábeis e assim podem ser potencialmente biodisponíveis. A fração de metais solúvel em água é a primeira fração a ser extraída, embora geralmente seja desprezível. É composta principalmente por íons livres e íons complexados com material orgânico solúvel. Constitui das espécies mais móveis e potencialmente disponíveis (URE & DAVIDSON, 2001)

O uso de água como extrator está diretamente relacionado a alguns problemas analíticos e metodológicos: (a) o teor de matéria orgânica presente na amostra influencia significativamente a interação entre a água e a fase sólida (ex. formando suspensão); (b) a água como reagente extrator não tem capacidade de tamponamento, portanto os componentes facilmente solúveis principais da matriz de interesse influenciam fortemente os resultados de uma extração de metais traços. Quando este procedimento é utilizado o pH pode ser indeterminado por causa da capacidade de tamponamento baixo da água e ocorre problemas com a readsorção; (c) a eficiência da extração aquosa para elementos traços é demasiadamente baixa e, portanto, a concentração pode estar fora dos limites de determinação dos métodos analíticos disponíveis (HELTAI *et al.*, 2000).

Quando uma matriz complexa e úmida é empregada para especiação química sequencial instantânea, a fim de manter o particionamento original, a fração solúvel em água é considerada a água sobrenadante (BUYKX *et al.*, 2000).

Fração trocável: Esta fração inclui metais fracamente adsorvidos na superfície dos sólidos presentes nas matrizes ambientais por interações eletrostáticas relativamente fracas. Estes metais podem ser liberados por processos de troca iônica e ser co-precipitados como carbonatos. Trocas na composição iônica ou diminuição do pH influenciam reações de adsorção-dessorção, podendo causar solubilização dos metais presentes nesta fração (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Íons de metais trocáveis são liberados facilmente para o meio ambiente. Os metais correspondentes à fração trocável geralmente representam uma porção pequena da concentração total do metal contida no solo, lodo sanitário e sedimentos, podendo ser extraídos com a utilização de sais neutros. Portanto, essa fração geralmente contabiliza menos de 2% do total de metal presente, a exceção disso, estão os macro elementos (K, Ca e Mn) (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Soluções de sais trocáveis como $MgCl_2$, $CaCl_2$, $NaNO_3$, $Mg(NO_3)_2$, $BaCl_2$, KNO_3 , $Ca(NO_3)_2$, CH_3COONH_4 , $Sr(NO_3)_2$, NH_4NO_3 , etc. (tipicamente na concentração de 1 mol.L^{-1}) são geralmente aplicados para arrastar a fração de metal ligada via forças eletrostáticas de sítos negativos na superfície das matrizes ambientais (FILGUEIRAS *et al.*, 2002). Sais de amônia de ácidos fortes, como NH_4Cl ou NH_4NO_3 podem diminuir o pH e facilitar a hidrólise do metal na matriz. Sais de nitrato são vantajosos em relação aos de cloreto e acetato, uma vez que não ocorre complexação devido ao íon nitrato, e como resultado a troca de cátions é o único mecanismo que ocorre (KRISHNAMURTI *et al.*, 1995). Sais de acetato e cloreto, além de liberar a fração trocável, aumentam a extração de metais de transição como resultado de sua ação complexante. Apesar desta desvantagem, $MgCl_2$ e CH_3COONH_4 a 1 mol.L^{-1} são os reagentes mais utilizados para liberar a fração trocável. A principal vantagem das soluções sais alcalinos e alcalinos terrosos sobre os sais de amônio encontra-se nos efeitos de interferência que podem resultar a partir do uso de soluções relativamente fortes na espectrometria de absorção atômica (URE *et al.*, 1993).

Embora CH_3COONH_4 seja comumente recomendado, sua escolha pode ser criticada pela dificuldade de determinação analítica confiável, mas a força de complexação do metal pelo acetato previne a readsorção ou precipitação dos íons de metal liberados. A eficiência de extração é também dependente das propriedades catiônicas, aumentando na ordem: $H^+ < Ca^{2+} < Mg^{2+} < Na^+$, NH_4^+ (GOMEZ-ARIZA *et al.*, 2000).

Em um estudo de secagem de amostra de matrizes com altas concentrações de matéria orgânica, descobriu-se que essa fração é a mais afetada durante técnicas de secagem pré-extração (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Fração solúvel em ácido: A fração solúvel em ácido contém metais que são precipitados ou co-precipitados como carbonato. O carbonato pode ser um importante adsorvente para muitos metais quando a matéria orgânica e os óxidos de Fe-Mn são

pouco abundantes em um ambiente. O metal é fracamente ligado aos carbonatos e está relacionado as condições ambientais. Esta fase é suscetível a mudanças de pH, sendo geralmente liberados com ação de ácidos fracos (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

A fração solúvel em ácido contém um pequeno percentual da concentração total de vários metais e é significativamente modificada pela secagem da amostra antes da extração (EMMERSON *et al.*, 2000).

O reagente mais utilizado para liberação de metais associados a esta fração é o acetato de sódio/ácido acético a 1 mol.L⁻¹ e pH 5, mas o efeito do reagente não se limita a dissolução do carbonato. Quantidades consideráveis de metais podem ser solubilizados a pH 5, a complexação dos metais também deve ser considerada. Este reagente é capaz de dissolver carbonatos sem ataque significativo a matéria orgânica, óxidos de Fe-Mn e aluminosilicatos. Porcentagens significativas de Fe e Mn têm sido encontradas em algumas extrações quando utilizado CH₃COONa/ CH₃COOH. Isso pode ser atribuído a solubilização de FeCO₃ e MnCO₃ em soluções ácidas de acetato de sódio em vez de ataque a óxidos de Fe e Mn. Sob condições mais ácidas, a solubilização de óxidos de Fe pode acontecer, solubilizando seus metais associados (Cu, Pb, Zn, etc.) (TISSIER *et al.*, 1979).

O tempo requerido com este reagente para completa solubilização dos carbonatos depende de vários fatores como o tamanho das partículas da matriz ambiental, tipo e quantidade de carbonato na amostra, etc. Cinco horas é tempo suficiente para extração de mais de 99% do metal associado a carbonato (TISSIER *et al.*, 1979).

Geralmente, metais traços nas frações solúveis em ácido e trocáveis são considerados prontamente e potencialmente biodisponíveis (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Fração Reduzível: Óxidos hidratados de manganês e ferro são extraídos juntos. A eliminação por esses óxidos secundários, presentes como revestimento nas superfícies minerais ou como partículas finas e discretas pode ocorrer por uma combinação dos seguintes mecanismos: co-precipitação, adsorção, formação de complexo superficial, e troca iônica (HALL *et al.*, 1996).

Esses óxidos são encontrados em grande proporção em amostras de solos e sedimentos, mas aparecem em menor abundância em lodos sanitários. Eles são termodinamicamente instáveis em circunstâncias anaeróbias. Redução do Fe(III) e Mn(IV) sob condições anaeróbias e sua dissolução posterior, podem liberar traços de metais adsorvidos (MARIN *et al.*, 1997).

A fração reduzível pode ser dividida em três frações: facilmente reduzível (óxidos Mn), moderadamente reduzível (óxidos amorfos de Fe) e fracamente reduzível (óxidos cristalinos de Fe), porém essa classificação é adicionada em poucos esquemas químicos (KRISHNAMURTI *et al.*, 1995). A fim de simplificar a especiação dos metais, grande parte dos esquemas propõe incluir apenas como fração reduzível (URE *et al.*, 1993).

O cloridrato de hidroxilamina em meio de ácido nítrico é o reagente mais utilizado para solubilização da fração facilmente reduzível, porém um dos problemas que aparece, é a possível liberação de elementos traços ligados à matéria orgânica, consequentemente a recuperação destes elementos na fração reduzível pode ser superestimada à custa da fração oxidável (AHNSTROM & PARKER, 1999).

A liberação seletiva de fração associada com os óxidos amorfos de Fe pode ser feita com cloreto de hidroxilamina $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em meio de ácido acético, que é capaz de quebrar as ligações entre metais e óxidos amorfos ou pobremente cristalizados de Fe sem atacar os silicatos ou a matéria orgânica, sendo incluídas no passado em alguns esquemas de extração como fração moderadamente reduzível (FILGUEIRAS *et al.*, 2002). Quando o pH da solução extratora cai abaixo de 1,5 o reagente pode em parte liberar metais associados com a fração de silicato (TISSIER *et al.*, 1979).

Outro reagente bastante seletivo para dissolução de óxidos amorfos de Fe é o ácido oxálico em meio de oxalato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4/\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) em pH 3. Esse reagente tem sido usado em esquemas para solubilização da fração moderadamente reduzível. No entanto, é provável que ocorra a migração de metais associados com a matéria orgânica, como resultado da capacidade de complexação do oxalato (SLAVEK *et al.*, 1982). Cloridrato de hidroxilamina em meio HCl exibe propriedades redutoras, sua seletividade seria similar ao do oxalato de amônio em meio ácido, mas com menor capacidade complexante (HOROWITZ & ELDRICK, 1987)

Citrato de sódio em meio de ditionito de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) é adequado para dissolver cristais de óxidos de Fe, e é utilizado em alguns esquemas. O principal inconveniente mostrado por esse reagente é a presença de impurezas de metal e sua difícil purificação. Além disso, este reagente ataca facilmente silicatos (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Fração Oxidável: Os metais podem estar associados através do processo de complexação ou bioacumulação com várias formas de matéria orgânica, como,

organismos vivos, detritos ou revestimentos em partículas minerais (FERMOSO *et al.*, 2009).

Metais associados com a fase oxidável permanecem no solo por longos períodos, mas podem ser mobilizados por processos de decomposição. A degradação da matéria orgânica em condições oxidantes pode conduzir a liberação de metais desta fase. Os metais ligados a sulfetos serão extraídos durante esta etapa (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

A fração orgânica presente na etapa oxidável não é considerada muito móvel ou biodisponível, uma vez que acredita-se que os metais estão associados a substâncias húmicas estáveis de alta massa molecular, que liberará pequenas quantidades de metais de uma maneira bastante lenta. Essa fração é bastante pequena nos solos, porém, é uma fração importante especialmente em sedimentos de rios e lodos sanitários, onde pode dominar a distribuição de metais traço (DAVIDSON *et al.*, 1999).

A secagem afeta pouco essa fração em comparação com as primeiras frações (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

Os metais ligados a matéria orgânica e sulfetos podem ser facilmente liberados em condições oxidantes. Um reagente oxidante é geralmente aplicado para liberar metais associados com essa fração, sendo os mais comuns: $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}^+$ (TISSIER *et al.*, 1979), NaOCl em pH 9,5 (KRISHNAMURTI *et al.*, 1995) e $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, (NORRSTROM & JACKS, 1998). No geral, o peróxido de hidrogênio aplicado com um aquecimento médio (85°C) por algumas horas é a opção preferida para degradar a matéria orgânica presente, com mínima alteração na fração de silicatos (URE *et al.*, 1993).

Apesar de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) aquecido a 85°C ser um bom oxidante de matéria orgânica, a oxidação é incompleta na presença de altos níveis de matéria orgânica ou orgânicos resistentes e minerais de sulfeto. Talvez a mais importante desvantagem apresentada por esse reagente é a readsorção do metal na fração residual o que requer um estágio de extração adicional com acetato de amônio a pH 2. A combinação H_2O_2 e $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, onde a adição de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ previne a readsorção dos metais extraídos a partir do substrato oxidado, tem sido adotada em muitos esquemas (URE *et al.*, 1993).

O H_2O_2 pode atacar os óxidos de Fe/Mn e conseqüentemente, esse reagente deve ser aplicado depois da dissolução da fase reduzível. Outro reagente aplicado para liberar metais associados com matéria orgânica é o pirofosfato de sódio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$), que é seletivo a fração orgânica facilmente solúvel (metais associados a ácidos húmicos e

fúlvicos). Assim como o H_2O_2 , esse reagente ataca óxidos de Fe-Mn amorfos, o que requer uma prévia dissolução da fase reduzível (Filgueiras *et al.*, 2002).

As dificuldades são evidentes para separação precisa de metais ligados a matéria orgânica, sulfetos e óxidos por especiação química sequencial. Como resultado tem-se uma pobre seletividade de muitos reagentes. Propostas para separação de metais associados com matéria orgânica e sulfetos primeiramente usando HCl diluído e secundamente NaOH diluído também tem sido feitas (FILGUEIRAS *et al.*, 2002).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local de realização dos experimentos e Amostragem

Os experimentos foram conduzidos no Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPSA) na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em Concórdia, SC.

O efluente da suinocultura utilizado neste estudo foi proveniente de duas granjas produtoras de suínos contendo todas as fases de produção (gestação, maternidade, creche, crescimento e terminação), com capacidade de alojamento de 3800 animais. O efluente das instalações produtoras de suínos foi armazenado em um sistema de calhas coletoras e posteriormente enviado por gravidade à estação de tratamento de dejetos suínos (ETDS), passando por uma caixa de amortecimento de vazão com comportas reguláveis e por uma peneira rotatória de 2 mm para retenção dos sólidos grosseiros, sendo homogeneizado em tanque de equalização (TE) (KUNZ *et al.*, 2006).

Neste estudo, o efluente utilizado foi recalcado diretamente do TE de acordo com vazão requerida. Foi utilizado um biodigestor BioKöhler[®] (Figura 3), produzido em fibra de vidro com fluxo ascendente de alimentação e volume útil de 10 m³. A temperatura interna (36±2°C) foi mantida pelo uso de serpentina e recirculação de água durante todo período experimental. A biomassa foi agitada pela recirculação do próprio efluente diariamente por 2 minutos para evitar sua colmatação. Foi realizado descarte semanal de lodo de 2% volume do afluente / volume reator, com objetivo de evitar o acúmulo de sólidos fixos.

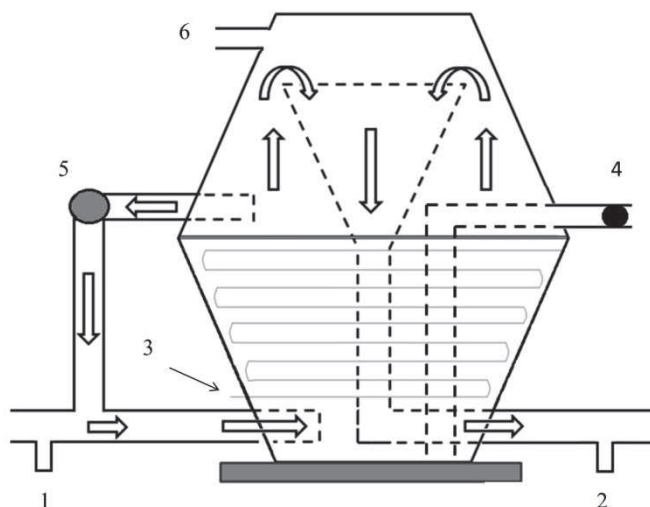


Figura 3. Diagrama esquemático do biodigestor BioKöhler® de fluxo ascendente, onde são representados no ponto 1- local de amostragem do efluente bruto (EB), ponto 2 - local de amostragem do efluente tratado (ET), ponto 3- sistema de aquecimento, ponto 4 -descarte de lodo, ponto 5 sistema de circulação de lodo e ponto 6 - saída do biogás gerado.

As amostras foram coletadas em dois pontos (entrada e saída), representando os efluentes suínícolas antes (EB) e após o tratamento anaeróbio (ET) (Figura 3), sendo posteriormente armazenadas a 4 °C até o momento das análises.

Todos os reagentes utilizados neste trabalho eram de grau analítico

4.2. Progressão de carga em sólidos voláteis

A progressão de carga no biodigestor foi realizada em três etapas, conforme apresentado na Tabela 2. A carga foi estimada com valores de acompanhamentos anteriores de sólidos voláteis presentes em EB (AMARAL *et al.*, 2011).

Tabela 2. Descrição das três etapas do estudo, com as respectivas vazões de alimentação, TRH e carga estimada de sólidos voláteis (SV).

Etapa	Vazão (m ³ .d ⁻¹)	TRH ^a (d)	Carga Estimada (KgSV.m ⁻³ .d ⁻¹)
1	0,56 ± 0,01	17,86 ± 0,10	0,45 ± 0,02
2	1,32 ± 0,01	7,57 ± 0,06	1,00 ± 0,01
3	1,88 ± 0,01	5,32 ± 0,03	1,50 ± 0,01

Valores expressos como Média ± Desvio Padrão

^a TRH: Tempo de retenção hidráulica;

A alimentação do biodigestor ocorreu de forma intermitente, devida à vazão mínima de trabalho do sistema de recalque, através de uma bomba submersa no TE, controlada por temporizador. Durante a etapa 1 a bomba de alimentação foi acionada por 3,2 minutos a cada 2 horas, na etapa 2 por 3,2 minutos a cada 1 hora e na etapa 3 por 4,8 minutos a cada 1 hora, respeitando-se as respectivas vazões diárias pré-estabelecidas.

4.3. Determinações analíticas

4.3.1. Produção de biogás

Para quantificar a produção de biogás foi utilizado um medidor de vazão da marca CONTECH, tipo THERMAL, modelo FT2, utilizando tecnologia de Diferencial de Temperatura Constante (DTC).

A produção de biogás foi expressa em termos de Capacidade Máxima de Geração de Biogás (CMGB), sendo a relação entre o volume normalizado de biogás produzido e a quantidade, em massa, de sólidos voláteis adicionados ao biodigestor.

4.3.2. Determinação da composição do Biogás

A determinação de CO₂ foi realizada pela adaptação do método de Orsat (KUNZ & OLIVEIRA, 2009), onde uma solução de NaOH reage com o CO₂ absorvendo-o em solução na forma de carbonato e bicarbonato. A partir da diferença de volume inicial e final estima-se a concentração de CO₂ e metano. O H₂S foi determinado pelo método do azul de metileno, onde o sulfeto reage com cloreto férrico e dimetil-p-fenilenodiamina em meio ácido para produzir azul de metileno. Após a reação, adiciona-se fosfato de amônio para eliminação da cor produzida pelo excesso de cloreto férrico. A determinação da concentração foi realizada por comparação colorimétrica (APHA, 2012).

4.3.3. Determinação de sólidos (ST, SV e SF)

As análises foram realizadas segundo procedimento descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). As amostras foram secas em estufa a 105°C, para determinação de sólidos totais (ST) e calcinadas em mufla a 550°C por 1 hora para obter os valores de sólidos fixos (SF). Por diferença entre ST e SF, estima-se o valor de sólidos voláteis (SV).

4.3.4. Determinação de Demanda Química de Oxigênio (DQO)

As análises de DQO foram realizadas segundo procedimento descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). O procedimento baseia-se na digestão ácida de 1 mL de amostra, na presença de dicromato de potássio em sistema de refluxo fechado, realizada em um digestor a 150°C por duas horas. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, a 600nm, após o resfriamento da amostra.

4.3.5. Carbono Total (CT), Carbono Inorgânico (CI), Carbono Orgânico Total (COT) e Nitrogênio Total (NT)

O CI foi determinado através do deslocamento de equilíbrio das espécies carbonatadas em meio ácido (H_3PO_4 40% v/v) e o COT foi determinado após combustão a 950°C. O CO_2 produzido em ambos os tratamentos foi quantificado por absorção de radiação infravermelho não dispersiva – NDIR. Para determinação de NT foi realizada a oxidação termocatalítica da amostra, gerando óxidos de nitrogênio. A quantificação foi determinada via célula eletroquímica. Foi utilizado o aparelho Multi Elementar Analytic® Multi C/N 2100 marca AnalytikJena.

4.3.6. Especiação química dos metais

Para especiação química de Cu e Zn foram utilizados os métodos da *Community Bureau of Reference* (BCR) original (URE *et al.*, 1993) e modificado (RAURET *et al.*, 2000), apresentados na Figura 4.

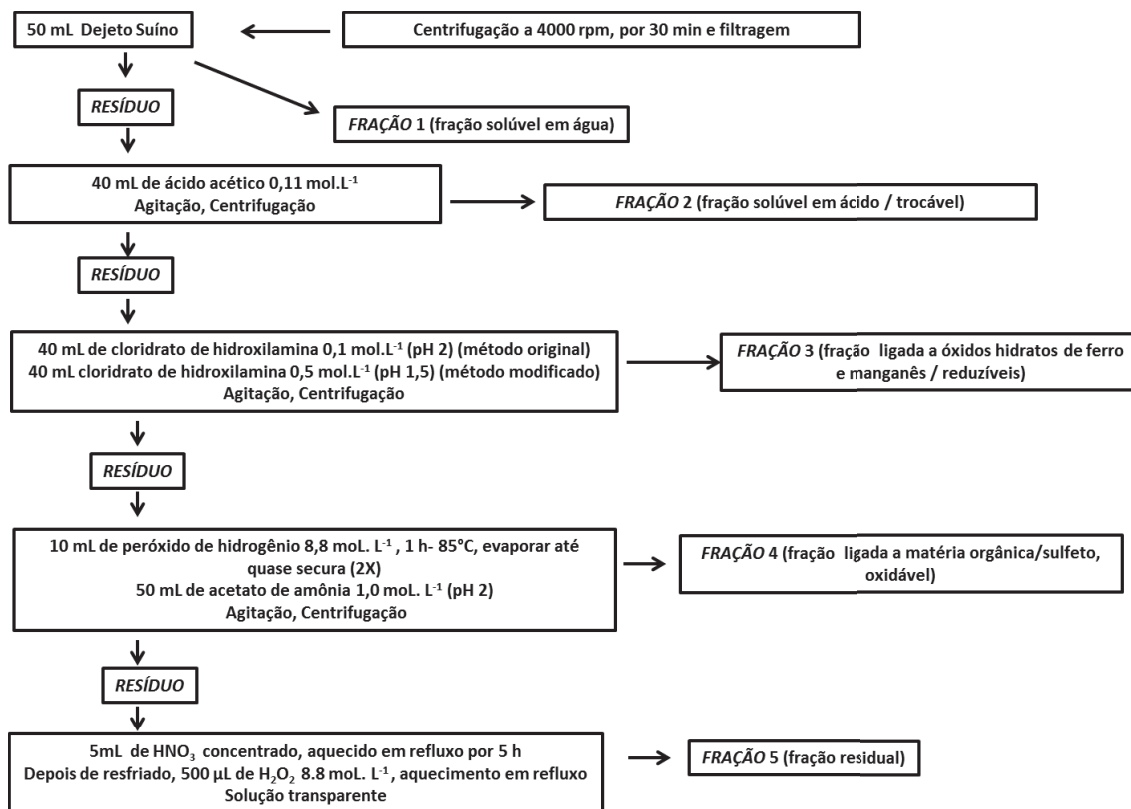


Figura 4. Esquema da extração química sequencial de cobre e zinco em dejetos suínos, utilizando método BCR original e modificado, com adição da fração solúvel em água.

Fração 1: foi realizado a centrifugação de 50 mL da amostra e posterior filtração em papel filtro com porosidade de 0,45µm.

Fração 2: ao resíduo sólido foram adicionados 40 mL de ácido acético 0,11 mol.L⁻¹ e mantido sob agitação por 16 horas. Os metais extraídos nesta etapa pertencem à fração dos trocáveis e solúveis em ácidos.

Fração 3: ao resíduo da segunda etapa foram adicionados 40 mL de cloridrato de hidroxilamina: 0,1 mol.L⁻¹ e o pH ajustado a 2 no método BCR original; e com cloridrato de hidroxilamina 0,5 mol.L⁻¹ e pH 1,5 no método BCR modificado, por 16 horas com agitação constante.

Fração 4: adicionou-se 10 mL de peróxido de hidrogênio 8,8 mol.L⁻¹ ao resíduo sólido da terceira fração, que foi digerido a temperatura ambiente por 1 hora. Após, a solução foi aquecida a 85°C em banho-maria por 1 hora e o solvente foi evaporado até quase securo. Uma segunda adição de peróxido de hidrogênio foi realizada e o processo foi repetido. Após o resfriamento, adicionou-se 50 mL de acetato de amônio 1,0 mol.L⁻¹ com pH ajustado a 2 com ácido nítrico e foi agitado por 16 horas.

Fração 5: adicionou-se 5mL de HNO₃ concentrado no resíduo da etapa anterior e a mistura foi aquecida em refluxo por 5h. Depois de resfriada, adicionou-se 5μL de H₂O₂ 8,8 mol.L⁻¹ e a solução foi aquecida novamente em refluxo por 1 hora ou até a solução ficar transparente

Após cada etapa, o extrato foi separado por centrifugação a 4000 rpm por 30 minutos e filtrado com papel filtro com porosidade de 0,45μm. A fração líquida foi separada para análise e a parte sólida submetida à próxima extração. As análises de concentração dos metais foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com chama VarianSpectr AA 220, equipado com lâmpadas de cátodo comum dos metais estudados, operando em comprimentos de onda de 213,8 nm (Zn) e 324,7 nm (Cu).

4.3.7. Quantificação de metais totais

A metodologia empregada no estudo de recuperação dos metais foi a mesma empregada por Steinmetz *et al.*, (2009 a), que obteve os melhores resultados quando estudou metais em dejetos suínos. Foram adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado em 5 mL de amostra, então a mistura foi aquecida em refluxo por 5 h. Depois de resfriada, adicionou-se 5μL de H₂O₂ 8,8 mol.L⁻¹ e a solução foi aquecida novamente em refluxo por 1 hora ou até a solução ficar transparente. Após o resfriamento da solução, o volume foi ajustado a 25 mL e realizada a análise dos metais utilizando o espectrômetro de absorção atômica com chama VarianSpectr AA 220 já citado.

4.4. Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados através da estimativa do desvio padrão de dez medidas do branco de cada fração e da inclinação da curva analítica, de acordo com as equações 1 e 2, respectivamente.

$$LD = 3x \frac{Des.Pad. Branco}{Inclinação da Curva} \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = 10x \frac{Des.Pad. Branco}{Inclinação da Curva} \quad \text{Equação 2}$$

Na tabela 3 estão apresentados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para cada metal estudado nos diferentes solventes utilizados em cada etapa de extração.

Tabela 3. Valores de LD e LQ encontrados para zinco e cobre em diferentes solventes.

Metal	Solvente	Limite de detecção	Limite de quantificação
		LD (mg.L ⁻¹)	LQ (mg.L ⁻¹)
Zinco	Água	0,0096	0,032
	Ácido Acético	0,0039	0,013
	Cloridrato de Hidroxilamina 0,1 mol.L ⁻¹	0,0058	0,019
	Acetato de Amônio	0,011	0,038
	Ácido Nítrico	0,0036	0,012
	Cloridrato de Hidroxilamina 0,5 mol.L ⁻¹	0,0051	0,017
	Cobre	Água	0,0084
Ácido Acético		0,0078	0,026
Cloridrato de Hidroxilamina 0,1 mol.L ⁻¹		0,015	0,051
Acetato de Amônio		0,054	0,18
Ácido Nítrico		0,014	0,046
Cloridrato de Hidroxilamina 0,5 mol.L ⁻¹		0,012	0,039

4.5. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se GrafPad Prism[®]. O intervalo de confiança da média dos valores experimentais foi calculado usando-se a Equação 3:

$$x \pm t \left(\frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Equação 3

Onde, x é o valor médio, s o desvio padrão amostral, n o número de replicadas e t é o valor correspondente a distribuição *t-Student* (grau de confiança de 95%). Foi realizado teste de diferença significativa entre as médias com um nível de confiança de 5% ($P < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo das relações entre Carbono Orgânico Total (COT) x Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Carbono Orgânico Total (COT) x Sólidos Voláteis

Este estudo objetivou encontrar uma relação entre carbono orgânico total com demanda química de oxigênio e concentração de sólidos voláteis no efluente da suinocultura, pois esses parâmetros são fundamentais na operação com êxito de qualquer reator anaeróbio. Tal investigação se justifica tendo em vista que as análises de COT não geram resíduos e economizam tempo na execução das análises, além de oferecer uma ferramenta de comparação dos resultados.

Steinmetz *et al.*, (2009 b) não encontraram uma relação satisfatória entre carbono total e DQO, porém citam uma possível relação existiria entre COT e DQO.

O modelo encontrado para a relação entre DQO e COT foi linear, com R-quadrado de 0,9773. O modelo, a dispersão dos dados experimentais, e a linha de tendência linear podem ser visualizados na Figura 5.

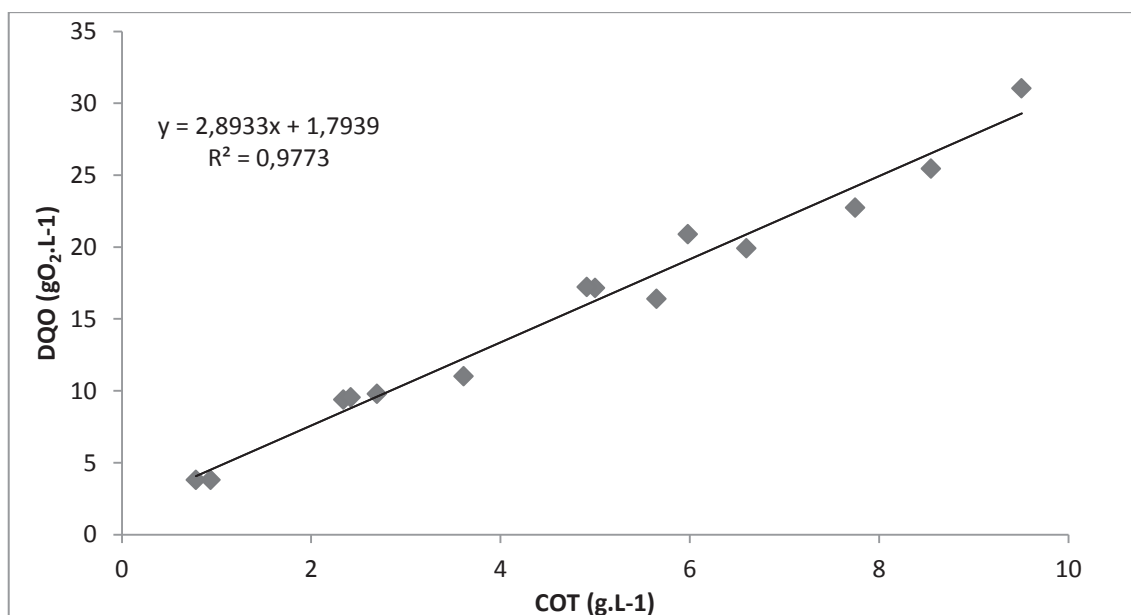


Figura 5. Relação entre DQO e COT em dejetos suíno.

Através da regressão linear chegou-se ao modelo proposto na Equação 4, que é uma equação linear.

$$[DQO] = 2,89[COT] + 1,79 \quad \text{Equação 4}$$

A partir do modelo foram estimados os valores para verificar o coeficiente de variação entre os valores medidos e os valores estimados, os resultados podem ser observados na Tabela 4. O coeficiente de variação foi calculado através da Equação 5:

$$Cv = 100 \cdot \frac{s}{x} \quad \text{Equação 5}$$

Onde Cv é coeficiente de variação (%), s é o desvio padrão e x a média dos dados.

Tabela 4. Resultado comparativo entre valores reais de COT e DQO e valores estimados de DQO em dejecto suíno.

Amostra	COT (medido) (g.L ⁻¹)	DQO (medido) (g.L ⁻¹)	DQO(estimada) (g.L ⁻¹)	Coeficiente de Variação (%)
ET	0,94	3,81	4,52	8,48
ET	0,78	3,81	4,16	4,41
ET	2,34	9,40	8,87	2,92
ET	2,42	9,55	9,11	2,36
ET	2,69	9,80	9,94	0,69
ET	3,61	11,01	12,71	7,18
EB	5,65	16,40	18,87	6,99
EB	5,00	17,15	16,90	0,73
EB	4,91	17,23	16,64	1,73
EB	6,60	19,93	21,74	4,35
ET	5,98	20,90	19,87	2,53
ET	7,75	22,75	25,21	5,13
ET	8,55	25,45	27,63	4,10
EB	9,51	31,05	30,52	0,86

Posteriormente à realização do estudo da relação entre COT e DQO, iniciou-se o estudo da relação entre SV e COT, sendo executada a mesma metodologia de amostragem.

Os dados experimentais foram plotados em um gráfico e avaliada a dispersão dos mesmos comparativamente a uma regressão linear dos dados, para obtenção de um modelo capaz de demonstrar a relação entre as variáveis. O modelo encontrado para a

relação entre sólidos voláteis e carbono orgânico total foi linear, com R-quadrado de 0,9839. A dispersão dos dados experimentais, o modelo e a linha de tendência podem ser visualizados na Figura 6.

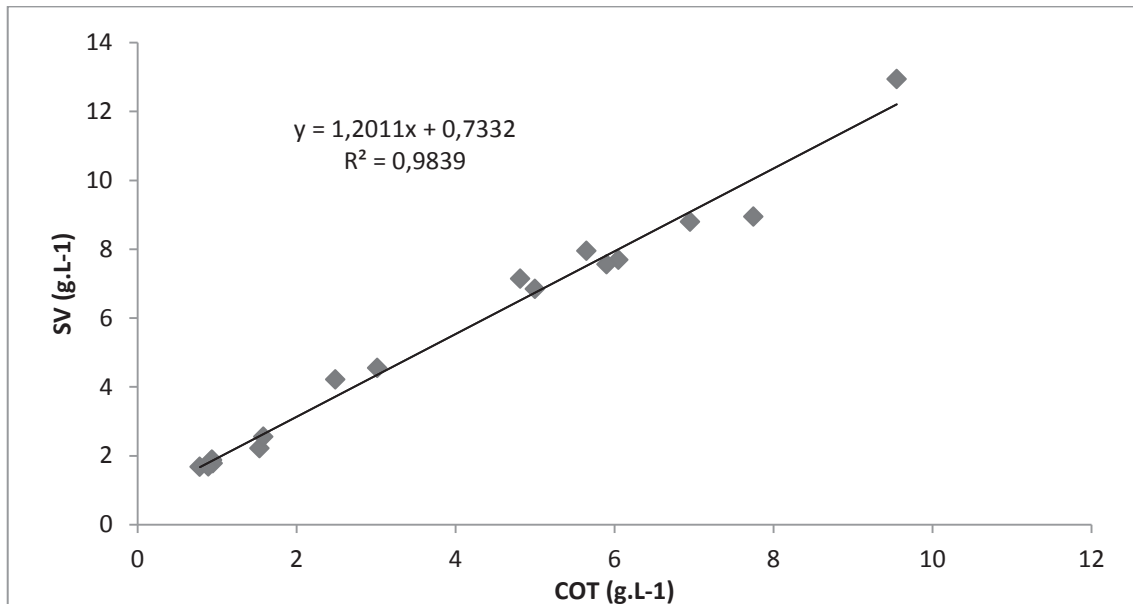


Figura 6. Relação entre SV e COT em dejetos suínos.

Através da regressão linear chegou-se ao modelo proposto na equação 6, que é uma equação linear.

$$[SV] = 1,20[COT] + 0,73$$

Equação 6

A partir da equação 6, foram estimados os valores de sólidos voláteis para cada um dos valores de COT e posteriormente comparados com os valores reais. Na Tabela 5 podem ser observados os valores de SV medidos e os valores de SV estimados, além do coeficiente de variação entre eles, calculados com a Equação 5.

Os baixos coeficientes de variação para os dois estudos demonstram que é possível estimar a concentração de DQO e sólidos voláteis com resultados de COT, através dos modelos propostos sem a perda de representatividade para amostras de dejetos suínos.

Tabela 5. Resultado comparativo entre valores reais de COT e SV e valores estimados de SV para dejetos suíno.

Amostra	COT (medido) (g.L ⁻¹)	SV (medido) (g.L ⁻¹)	SV(estimado) (g.L ⁻¹)	Coefficiente de Variação (%)
ET	0,94	1,87	1,86	0,17
ET	0,94	1,88	1,86	0,69
ET	0,95	1,78	1,87	2,49
EB	6,95	8,79	9,08	1,60
ET	0,78	1,67	1,67	0,01
ET	0,89	1,69	1,80	3,31
ET	1,53	2,22	2,58	7,54
EB	6,05	7,69	7,99	1,99
ET	1,59	2,55	2,64	1,68
EB	4,82	7,14	6,52	4,57
EB	5,90	7,56	7,82	1,68
ET	2,49	4,22	3,72	6,23
EB	3,02	4,54	4,36	2,13
ET	5,65	7,95	7,52	2,79
ET	5,00	6,85	6,74	0,79
EB	7,75	8,94	10,04	5,82
ET	9,55	12,94	12,20	2,92

5.2. Caracterização do dejetos suíno

Caracterizou-se EB, quanto à concentração de CT, COT, CI e NT, como pode ser observado na Figura 7. A Tabela 6 apresenta os valores médios obtidos durante a caracterização e seus respectivos desvios padrões.

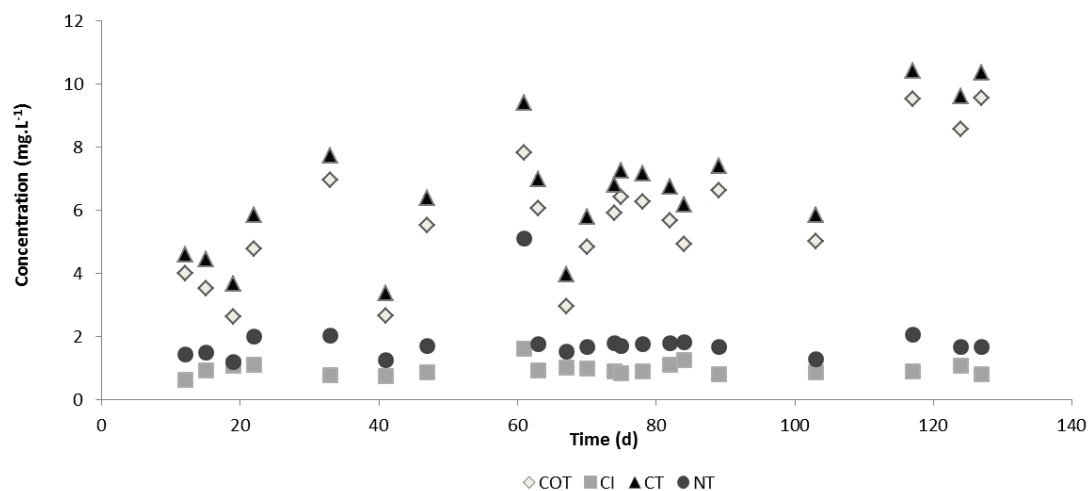


Figura 7. Acompanhamento de carbono total(CT), carbono inorgânico (CI), carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) em dejetos suínos antes da entrada no biodigestor (EB).

Tabela 6. Valores médios de carbono e nitrogênio encontrados em análises de dejetos suínos brutos (EB) e seus desvios padrão, com n= 21.

	Média (g.L ⁻¹)	Desvio Padrão
Carbono orgânico Total	5,71	1,98
Carbono Inorgânico	0,94	0,20
Carbono Total	6,62	2,01
Nitrogênio Total	1,81	0,77

O efluente da suinocultura utilizado neste trabalho apresentou uma grande variabilidade em sua concentração (Figura 7). Este comportamento é inerente ao processo produtivo em questão devido a fatores que influenciam diretamente a composição destes efluentes. Vanotti & Szogi (2008) e Rodrigues *et al.*, (2010), atribuíram estas variações ao consumo de água pelos suínos, desperdício nas instalações, oscilações no número de animais nas granjas e principalmente a fase de crescimento em que estes se encontram. A presença de um maior número de animais próximos ao abate diminui a diluição de seus efluentes. Aspectos nutricionais e o tempo de armazenamento dos dejetos nas calhas também tem uma influência direta na concentração e biodegradabilidade dos efluentes da suinocultura (KUNZ *et al.*, 2009 b, JUNIOR *et al.*, 2010, SUZUKI *et al.*, 2010).

Estes fatores refletem o que acontece em sistemas de produção de animais confinados (SPACs) e tem reflexos diretos nas estratégias de manejo e tratamento de seus efluentes devendo ser compreendidos e tratados de maneira sistêmica.

5.3. Remoção de DQO

As exigências ambientais quanto a qualidade do efluente suinícola trazem a remoção de DQO como uma das prioridades dos tratamentos biológicos disponíveis e aplicáveis. Como já mostrado na tabela 2, durante as etapas 1, 2 e 3 ocorreu a diminuição gradativa do TRH do efluente no biodigestor. Isto ocasionou a diminuição da eficiência de remoção de DQO no sistema (Figura 8).

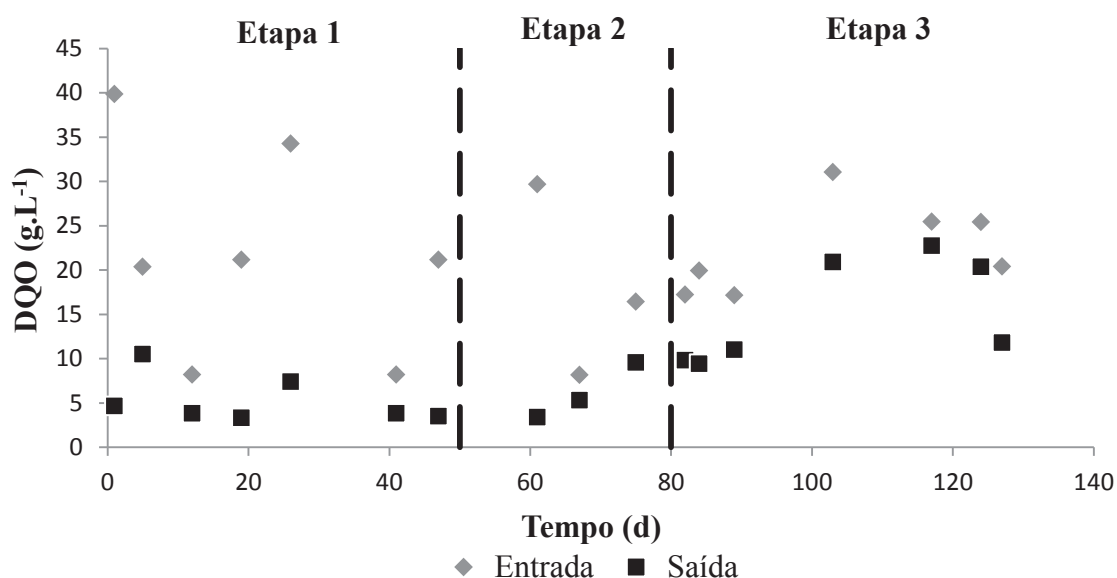


Figura 8. Acompanhamento da demanda química de oxigênio (DQO) na entrada (EB) e na saída do biodigestor (ET) durante as três etapas do experimento.

Os valores médios de saída de DQO e os intervalos de confiança ao longo das três etapas do estudo foram de $2,69 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,07$; $3,16 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,13$ e $5,89 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,15$ respectivamente. Houve diferenças significativas entre as etapas 1 e 3 ($p=0,0017$) e 2 e 3 ($p=0,0392$), mostrando que a diminuição do TRH ocasionou a queda na capacidade de remoção da matéria orgânica, sendo de 75,85% (etapa 1), 66,36% (etapa 2) e 32,31% (etapa 3). A redução do TRH tem impactos significativos sobre as etapas iniciais da biodigestão anaeróbia e está diretamente relacionado a biodegradabilidade e disponibilidade do substrato (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008).

Hidrólise e acidogênese são etapas importantes na degradação da matéria orgânica e interferem diretamente na eficiência do tratamento devido à estabilização de macromoléculas complexas que estão presente no dejetos suíno, sendo consideradas etapas limitantes na biodigestão anaeróbia (ELEFSINIOTIS & WAREHAM, 2007).

Muitas vezes a etapa limitante do processo anaeróbio é a hidrólise. Nessa etapa as bactérias hidrolíticas, através de enzimas extracelulares, quebram compostos orgânicos complexos como amido, pectina, celulose, hemicelulose, lipídios e proteínas, em compostos simples como aminoácidos e ácidos graxos voláteis (EVANS & FURLONG, 2011). Acidogênese é o processo em que açúcares, aminoácidos, peptídeos, ácidos graxos de cadeia longa e moléculas de baixa massa molecular são metabolizados a ácidos graxos de cadeia curta, CO_2 , H_2 , NH_3 , SO_4^{2-} e álcoois pelas bactérias acidogênicas (METCALF & EDDY, 2003)

O TRH necessário é dependente do modelo do biodigestor e do material a ser biodigerido, sendo que, menores velocidades de degradação do substrato, implicam em maiores tempos de duplicação celular (pela limitação do substrato), necessitam de um maior TRH (WELLINGER, 1999).

O processo de biodigestão anaeróbia envolve diferentes espécies de micro-organismos, podendo ser divididos em 2 grupos: bactérias acidogênicas e arqueas metanogênicas, apresentando diferenças nas condições necessárias para crescimento e manutenção celular. Alguns trabalhos afirmam que a realização destas etapas em reatores separados (dois estágios) aumentam a capacidade de degradação do substrato, sendo um operado em condições ótimas para acidogênese e outro para metanogênese (UENO *et al.*, 2001; HORI *et al.*, 2006).

5.4. Remoção de sólidos voláteis e capacidade de produção de biogás

A carga de alimentação de sólidos voláteis no biodigestor (Figura 9) apresentou instabilidade em função da variação em sua concentração, cujos motivos já foram discutidos acima, principalmente na etapa 3 o que também se traduziu em uma maior variabilidade na carga de saída do reator.

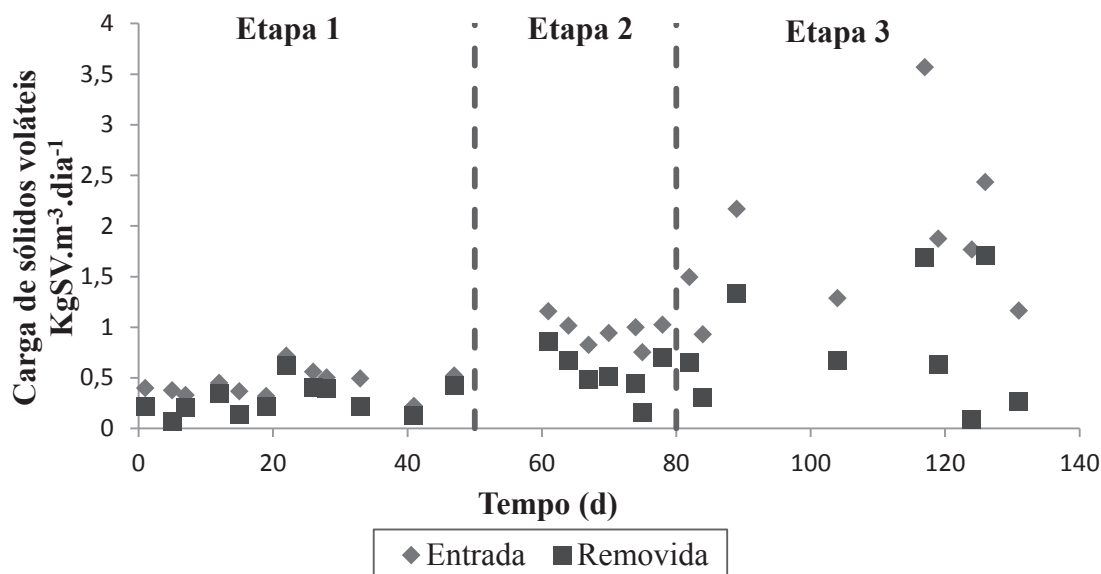


Figura 9. Carga de sólidos voláteis (SV) na entrada e removida no biodigestor durante as três etapas do estudo.

Entre as etapas do estudo, houve diferença significativa apenas na remoção de SV entre as etapas 1 e 3 ($p = 0,03$). Os resultados apresentados na Tabela 7 mostram que as condições de carga de SV para produção de biogás foram melhores durante as etapas 2 e 3, enquanto a etapa 1 proporcionou maior degradação da matéria orgânica, ou seja, maior capacidade de estabilizar o efluente suínico. OLIVEIRA & HIGARASHI (2006), também relataram maior capacidade de produção de biogás em função dos SV adicionados quando o biodigestor operou a TRHs menores a 35°C.

Tabela 7. Carga média de entrada e removida, porcentagem de remoção de SV e seus intervalos de confiança e a capacidade máxima de geração de biogás durante as três etapas do experimento.

Etapa	Carga média Entrada (KgSV.m ⁻³ .dia ⁻¹)	Carga média Removida (KgSV.m ⁻³ .dia ⁻¹)	Remoção de SV (%)	CMGB* (Nm ³ Kg SV ⁻¹ _{adic})
1	0,436 ± 0,002	0,280 ± 0,003	61,376 ± 0,361	0,144
2	0,959 ± 0,003	0,545 ± 0,006	55,175 ± 0,419	0,848
3	1,853 ± 0,016	0,814 ± 0,013	43,177 ± 0,180	0,869

*Capacidade máxima de geração de biogás

Durante a etapa 1 o reator estudado apresentou melhor capacidade de mineralização da matéria orgânica presente nos efluentes da suinocultura, uma vez que

a remoção de SV foi maior que 60 %, porém a CMGB foi menor nesta etapa. Vivan *et al.*, (2010) atingiram produção de $0,33 \text{ Nm}^3 \cdot \text{KgSV}^{-1}_{\text{adic.}}$ e remoção de 34,63% de SV utilizando um biodigestor modelo lagoa coberta, sem sistema de aquecimento, TRH de 45 dias e carga de alimentação de $0,55 \text{ KgSV} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$.

Os resultados de CMGB obtidos durante as etapas 2 e 3 são aproximadamente 6 vezes maior do que o atingido na etapa 1, porém ainda são menores do que o encontrado por Kunz (2007) que alcançou $1,43 \text{ Nm}^3 \cdot \text{KgSV}^{-1}_{\text{adic.}}$, para um reator de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) alimentado com dejetos suíno previamente tratado por floculação e separação de sólidos. Como os reatores anaeróbios do tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) operam a baixos TRHs, as altas concentrações de sólidos suspensos podem afetar a etapa da hidrólise, prejudicando a produção de biogás, com isso surge a necessidade de um tratamento preliminar quando esse modelo de biodigestor é empregado para tratamento de efluentes da suinocultura (CAMPOS *et al.*, 2006).

Uma alternativa é o aumento da carga orgânica volumétrica por concentração de matéria orgânica, sem alterar o TRH, para aumentar a produção de biogás. Isso foi observado por Kaparaju *et al.*, (2010), que adicionaram palha de milho e vinhaça em dejetos suíno nas relações de 5, 10 e 15%, afim de elevar a carga orgânica ($9,7, 12,4$ e $17,1 \text{ g-DQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) sem alterar o TRH de 48 dias, resultando em maiores produções de metano ($100,0, 127,2$ e $154,8 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{gDQO}^{-1}$).

Na operação de biodigestores a baixos tempos de retenção hidráulica é recomendável a utilização de uma etapa prévia de hidrólise para evitar a sobrecarga do sistema (LI *et al.*, 2010)

5.4.1. Composição do biogás produzido

A Figura 10 apresenta o acompanhamento da qualidade do biogás produzido durante o estudo.

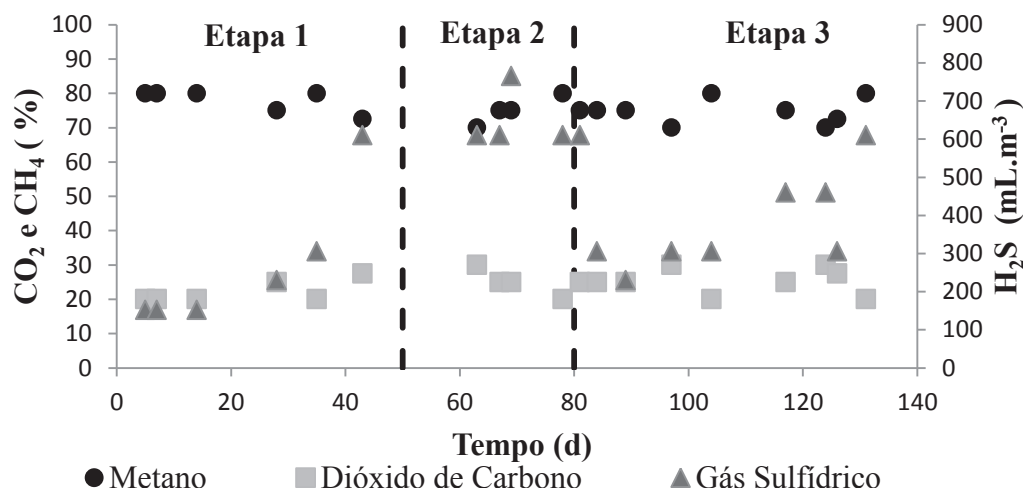


Figura 10. Caracterização do biogás produzido; metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e sulfeto de hidrogênio (H₂S) durante as três etapas do trabalho.

A porcentagem de metano durante as 3 etapas foram de $77,92 \pm 0,09$ % (etapa 1), $75,00 \pm 0,14$ % (etapa 2) e $74,72 \pm 0,08$ % (etapa 3), não havendo diferença significativa entre os resultados.

Assim, a capacidade máxima de produção de metano durante as etapas foi de $0,112 \pm 0,07$ Nm³CH₄.Kg⁻¹SV_{adic} (etapa 1), $0,636 \pm 0,11$ Nm³CH₄.Kg⁻¹SV_{adic} (etapa 2) e $0,649 \pm 0,06$ Nm³CH₄.Kg⁻¹SV_{adic} (etapa 3). Os resultados das etapas 2 e 3 foram elevados em comparação com o que tem sido descrito na literatura. Utilizando dejetos suíno como substrato para biodigestão anaeróbia, e operando os reatores em condições mesofílicas. BONMATI et al. (2001) obtiveram a produção de $0,347$ Nm³CH₄.Kg⁻¹SV_{adic}, CHAE et al. (2008) de $0,437$ Nm³CH₄.Kg⁻¹SV_{adic} e AHN et al., (2009) de $0,337$ Nm³CH₄.Kg⁻¹SV_{adic}. A redução do TRH com a elevação da carga de SV no biodigestor apresentou aumento na produção de metano, podendo ser utilizada como estratégia para incrementar sua produção quando este for o objetivo principal da utilização da biodigestão anaeróbia.

As concentrações médias encontradas para o gás sulfídrico (H₂S) durante as etapas 1, 2 e 3 do estudo foram de $266,83 \pm 4,82$ mL.m⁻³ (etapa 1), $648,75 \pm 2,64$ mL.m⁻³ (etapa 2) e $398 \pm 3,05$ mL.m⁻³ (etapa 3). Ocorreram diferenças significativas entre as concentrações nas etapas 1 e 2 ($p=0,0041$), e 2 e 3 ($p=0,0075$). Entre as etapas 1 e 3 não houve diferença significativa.

Durante o processo anaeróbio a formação do H₂S ocorre principalmente devido a degradação de proteínas contendo enxofre (ex. metionina e cisteína) ou por redução de

sulfatos presentes no meio. O H_2S em fase gasosa entra em contato com bactérias oxidadoras de enxofre, as quais oxidam o H_2S em presença de quantidades traços de oxigênio. Esta conversão pode ocorrer diretamente na câmara de gás, precipitando enxofre elementar nas paredes internas do biodigestor (NAMGUNG et al, 2012). As variações na concentração de H_2S no biogás estão relacionadas às mudanças já discutidas na composição do efluente suínico, gerando diferentes quantidades de H_2S e por disponibilidade de diferentes quantidades traço de oxigênio no meio.

5.5. Metais em dejetos suíno

5.5.1. Concentração total

As médias das concentrações totais de cobre e zinco encontrados no dejetos suíno estão apresentadas na tabela 8. Para fins de comparações com a legislação brasileira vigente e com a literatura internacional, as concentrações dos metais em EB e ET foram apresentadas de duas maneiras diferentes; (a) matéria seca ($mg.kg^{-1}$) e (b) volume de dejetos líquido ($mg.L^{-1}$).

Tabela 8. Concentração total de zinco e cobre em EB e ET, durante as 3 etapas do experimento.

Metal	Etapa	$mg.L^{-1}$ (EB – ET)	
		$mg.kg^{-1}$ (EB – ET)	
Zn	1	(94,00±2,00 – 64,00±2,00)	(6770,0 ± 140,0 – 6580,0 ± 200,0)
	2	(57,00 ± 1,00 – 49,00±1,00)	(6210,0 ± 110,0– 5660,0 ± 120,0)
	3	(39,75±1,29 – 47,25±0,53)	(3410,0 ± 360,0 – 7550,0± 90,0)
Cu	1	(13,55±0,10 – 9,05±0,10)	(980,0 ± 0,01 – 930,0 ± 10,0)
	2	(7,27 ± 0,23 – 6,58 ± 0,08)	(790,0 ± 20,0 - 760,0 ± 10,0)
	3	(6,13±0,23 – 6,70±0,04)	(0550,0 ± 0,02 – 1070,0±10,0)

A elevada concentração de zinco e cobre em dejetos suíno é um dos fatores que torna inadequada sua emissão direta em corpos de água receptores, uma vez que os valores superam os estabelecidos pela resolução CONAMA 430 (2011) ($5,0 mg Zn .L^{-1}$ e $1,0 mg Cu .L^{-1}$).

A resolução CONAMA 375 (2006) estabelece critérios para o uso do lodo de esgoto gerado em estação de tratamento de esgoto sanitário como condicionador de solo para agricultura, onde os limites para cobre e zinco são de 1500,0 mg.kg⁻¹ e 2800,0 mg.kg⁻¹ respectivamente. Durante as 3 etapas do estudo a concentração de cobre foi inferior ao limite máximo instituído por esta resolução ambiental. As concentrações encontradas para Zn em EB e ET superam às estabelecidas por essa resolução, indicando a necessidade de um tratamento adicional antes de possível aplicação do efluente suinícola ao solo.

Tulayakul *et al.*, (2011) encontraram concentração média de zinco de 4600,0 mg.kg⁻¹ e Bao et al, (2011) encontraram para cobre 0,78 mg.g⁻¹ quando estudaram dejetos suínos submetidos a biodigestão anaeróbia. Estes valores foram próximos aos obtidos neste trabalho.

Com base nas concentrações expressas em mg.L⁻¹ na Tabela 8, foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações de Zn em EB nas etapas 1 e 2 (p=0,0036), 1 e 3 (p=0,0001) e 2 e 3 (p=0,0002). Para Zn em ET ocorreram diferenças significativas entre as etapas 1 e 2 (0,0215) e 1 e 3 (0,0002). As concentrações de Cu em EB também apresentaram diferenças significativas entre as etapas 1 e 2 (p = 0,0015), 1 e 3 (p<0,0001) e 2 e 3 (0,0085). Para Cu em ET ocorreram diferenças significativas entre as etapas 1 e 2 (p=0,0025) e 1 e 3 (p<0,0001).

Essas diferenças de concentração durante as etapas do estudo podem ser atribuídas principalmente a mudança na composição da ração suinícola durante as diversas fases do crescimento do animal. Também influenciam as variações do número de animais em diferentes etapas de produção durante o período de estudo; mudanças no volume de efluente gerado através de diferenças no consumo de água pelos animais, lavagem de instalações e desperdício de água por problemas hidráulicos; transtornos alimentares por stress e doenças, causando mudanças na absorção e excreção de metais (STEINMETZ *et al.*, 2009 a). Popovic e Jensen, (2012) mostram que mudanças nas condições de estocagem do efluente suinícola antes do tratamento anaeróbio também podem causar diferenças nas concentrações de Cu e Zn.

Essa hipótese é reforçada por resultados obtidos por Pereira (2006), que avaliou a distribuição dos metais em dejetos de suínos de diferentes etapas da criação de um sistema operado em ciclo completo. Neste trabalho o autor encontrou maior concentração dos metais para as fases de creche, crescimento e terminação, evidenciando uma relação entre a composição do efluente e a fase de criação do suíno.

Os metais encontrados são provenientes de sais adicionados na dieta suinícola, não apenas como nutrientes essenciais, mas também como suplementos para melhorar a saúde e a eficiência da conversão alimentar. Uma grande fração do metal ingerido pelo suíno é excretada nas fezes e urina, conseqüentemente a concentração encontrada no dejecto é dependente dos constituintes da dieta alimentar (BOLAN *et al.*, 2004).

5.5.2. Fracionamento e recuperação

Um *check-up* interno foi realizado com o resultado da soma das frações obtidas durante a especiação química sequencial por comparação com a concentração total do metal no dejecto suíno. Os resultados encontrados para o fracionamento e as porcentagens de recuperação em relação a concentração total encontrada são apresentados na Tabela 9.

Os resultados de recuperação (Tabela 9) indicam que a soma das 5 frações sequencialmente extraídas estão em acordo com os resultados da digestão total da amostra, proporcionando recuperações satisfatórias (81,60 – 104,73%) quando comparados aos resultados encontrados na literatura.

Kartal *et al.*, (2006), atingiram recuperações de 87% para o cobre e 87,5% para o zinco estudando sedimentos urbanos, enquanto que Dabrowska *et al.*, (2012) estudaram as recuperações de Cu e Zn em lodo de esgoto sanitário antes e depois de ser biodigerido, obtendo recuperações de 92% e 87% para zinco e 102% e 98% para cobre, respectivamente, valores na mesma ordem de grandeza dos obtidos durante este trabalho.

Tabela 9. Fracionamento de zinco e cobre em EB e ET e suas respectivas porcentagens de recuperação, durante as 3 etapas de progressão de carga.

Etapa	Metal	EB		ET		
		Concentração mg.L ⁻¹	I.C.	Concentração mg.L ⁻¹	I.C.	
1	Zn	Fração 1	1,250	1,241 - 1,259	0,715	0,710 - 0,720
		Fração 2	5,940	5,928 - 5,952	3,780	3,765 - 3,795
		Fração 3	27,324	27,053 - 27,595	15,876	15,834 - 15,918
		Fração 4	48,938	48,782 - 49,094	40,073	40,002 - 40,144
		Fração 5	0,800	0,797 - 0,803	0,558	0,557 - 0,559
		Soma	84,25		61,001	
		Rec. (%)	89,63		95,31	
	Cu	Fração 1	0,315	0,314 - 0,316	0,125	0,124 - 0,126
		Fração 2	0,175	0,173 - 0,177	0,091	0,087 - 0,095
		Fração 3	2,217	2,214 - 2,22	0,693	0,688 - 0,698
		Fração 4	7,755	7,734 - 7,776	7,960	7,948 - 7,972
		Fração 5	1,067	1,064 - 1,07	0,610	0,607 - 0,613
		Soma	11,53		9,478	
		Rec. (%)	85,07		104,73	
2	Zn	Fração 1	0,490	0,489 - 0,491	0,328	0,327 - 0,329
		Fração 2	4,013	4,007 - 4,019	2,588	2,586 - 2,590
		Fração 3	16,600	16,589 - 16,611	10,450	10,435 - 10,465
		Fração 4	29,640	29,618 - 29,662	29,250	29,178 - 29,322
		Fração 5	0,900	0,898 - 0,902	0,375	0,374 - 0,376
		Soma	51,64		42,99	
		Rec. (%)	90,60		87,74	
	Cu	Fração 1	0,520	0,499 - 0,541	0,115	0,114 - 0,116
		Fração 2	0,475	0,474 - 0,476	0,375	0,374 - 0,376
		Fração 3	0,173	0,172 - 0,174	0,165	0,164 - 0,166
		Fração 4	5,035	5,034 - 5,036	4,626	4,625 - 4,627
		Fração 5	0,148	0,147 - 0,149	0,085	0,085 - 0,085
		Soma	6,35		5,36	
		Rec. (%)	87,29		81,60	
3	Zn	Fração 1	1,143	1,136 - 1,15	0,828	0,827 - 0,829
		Fração 2	1,863	1,853 - 1,873	2,313	2,311 - 2,315
		Fração 3	4,523	4,513 - 4,533	3,510	3,499 - 3,521
		Fração 4	28,958	28,928 - 28,988	31,655	31,606 - 31,704
		Fração 5	0,959	0,955 - 0,963	1,092	1,087 - 1,097
		Soma	37,44		39,39	
		Rec. (%)	94,19		99,19	
	Cu	Fração 1	0,115	0,114 - 0,116	0,068	0,065 - 0,071
		Fração 2	0,034	0,033 - 0,035	0,046	0,044 - 0,048
		Fração 3	0,350	0,349 - 0,351	0,225	0,224 - 0,226
		Fração 4	4,354	4,353 - 4,355	4,764	4,762 - 4,766
		Fração 5	0,431	0,430 - 0,432	0,380	0,379 - 0,381
		Soma	5,28		5,48	
		Rec. (%)	86,26		81,83	

I.C.: Intervalo de confiança; Rec.: Porcentagem de recuperação;

A Figura 11 apresenta a distribuição de Zn e Cu em EB e ET em porcentagens relativas a cada fração apresentada na Tabela 9. A biodisponibilidade e ecotoxicidade dos

metais presente em EB e ET extraídos durante as 3 etapas de progressão de carga, dependem sobretudo da fração em que se encontram (CHEN *et al.*, 2008). As frações solúveis em água, ácido e trocável (frações 1 e 2) apresentam uma alta biodisponibilidade dos metais associados. A fração reduzível (fração 3), ocupa o segundo lugar em relação a mobilidade, porque os metais associados com essa fração são termodinamicamente instáveis e podem permanecer sob condições anóxicas no solo (FUENTES *et al.*, 2008).

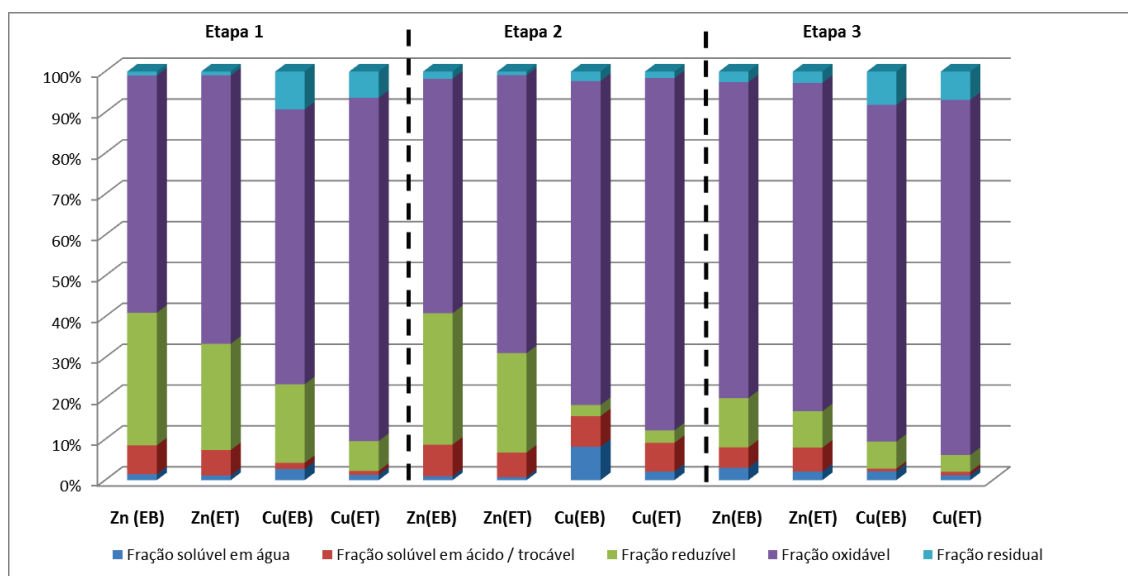


Figura 11. Distribuição de zinco e cobre nas cinco diferentes frações da especiação química durante as três etapas de progressão de carga.

A primeira fração extraída representa os metais solúveis em água. É composta principalmente por íons metálicos livres e íons complexados com material orgânico solúvel (URE e DAVIDSON, 2001). Essa fração foi pouco significativa para EB e ET. Os íons metálicos livres no dejetos suíno podem ser adsorvidos na parede celular dos micro-organismos anaeróbios. As paredes celulares são carregadas negativamente pela ionização (perda de hidrogênio) a partir de grupos funcionais importantes, tais como carboxila (-COOH) e hidroxilo (-OH). Uma vez adsorvidos os metais são então absorvidos pelas células bacterianas e deslocados para fração 3 (oxidáveis) (GERARDI, 2003). Outro motivo da baixa concentração de metais nessa fração é o fato do meio do biodigestor conter altas concentrações de H_2S , o que pode fazer com que os metais livres precipitem na forma de sulfeto (KAFLE & KIM, 2013). A fração solúvel em água

pode ser facilmente removida por processos de separação de fase (STEINMETZ, *et al.*, 2009 a).

A fração que contém os metais trocáveis e solúveis em ácido acético inclui metais fracamente adsorvidos na superfície dos sólidos presentes no dejetos suíno por interações eletrostáticas fracas. Estes metais são frequentemente liberados por processos de troca iônica e podem estar co-precipitados como carbonatos ou bicarbonatos. O carbonato pode ser um importante adsorvente para muitos metais traço, em virtude disso, essa fração está diretamente relacionada com a alcalinidade no biodigestor (FILGUEIRAS *et al.*, 2002). Essa fração manteve-se aproximadamente constante durante todas as etapas, após a biodigestão anaeróbia.

A terceira fração representa a fração redutível, onde os metais estão ligados a óxidos de ferro e manganês. Essa fração diminui entre EB e ET, pois é termodinamicamente instável em condições estritamente anaeróbias (P-RedOx < - 200 mV), o que ocasiona a sua dissolução da fração após a passagem pelo biodigestor. A diminuição da fração redutível resultou em um aumento na concentração de Cu e Zn na fração oxidável, onde são encontrados os metais associados à fração oxidável, ou seja, ligados a matéria orgânica e sulfeto. Com a dissolução da fração redutível em ambientes anaeróbios e a alta concentração de H₂S no meio, devido a degradação da matéria orgânica, é provável que os íons metálicos liberados precipitem na forma de sulfetos ($K_{psCuS} = 8,0 \cdot 10^{-37}$ e $K_{psZnS} = 1,2 \cdot 10^{-23}$).

Na fração contendo metais residuais, encontram-se principalmente minerais primários e secundários (FILGUEIRAS *et al.*, 2002). Os metais ligados a fração residual possuem estruturas cristalinas e são inertes aos organismos vivos, sendo assim esta fração é considerada como uma fração estável (FUENTES *et al.*, 2008). Esses metais não são esperados em solução em um tempo razoável nas condições normais encontradas na natureza (LASHEEN & AMMAR, 2009).

Nota-se uma menor influência na distribuição dos metais após a biodigestão anaeróbia durante a etapa 3, uma vez que esta, apresenta o menor valor de TRH (Tabela 2). Durante as etapas 1 e 2 de progressão de carga ocorreu diminuição de 6,4 e 7,8% de Zn da fração redutível, enquanto que na etapa 3 ocorreu diminuição de 3,2%. Outro fator, que evidencia a menor influência da biodigestão anaeróbia durante a terceira etapa, é o aumento da concentração de zinco na fração oxidável, sendo de 7,6% (etapa 1), 10,63% (etapa 2) e apenas 3,0% (etapa 3). O cobre apresentou características

similares, aumentando 16,7% e 6,92% durante as etapas 1 e 2 respectivamente, e 4,49% durante a etapa 3.

Artola *et al.*, (1999), propõe que a biomassa anaeróbia apresenta grande afinidade com os metais, particularmente com o Cu. Esse fato pode ser observado também na Figura 6, onde a maior percentual dos metais encontra-se na fração oxidável, demonstrando grande afinidade.

Theis e Hayes, (1978) indicam que em condições anaeróbias (P-RedOx: -300mV, pH neutro) favorece a formação de sulfetos e carbonatos precipitados, porém observa-se um aumento na fração oxidável (Figura 6), indicando que durante este estudo prevaleceu a precipitação como sulfeto, uma vez que a fração em que se encontra os carbonatos é pouco significativa.

Utilizando método de especiação química sequencial proposto por McGrath & Cegarra, (1992), Marcato *et al.*, (2009) estudaram efluente da suinocultura antes e após biodigestão anaeróbia. Os resultados obtidos foram bastante diferentes deste trabalho, onde o Cu foi encontrado com maior concentração na fração oxidável, porém ocorreu diminuição após a biodigestão anaeróbia aumentando a fração de carbonatos. Já o Zn encontra-se principalmente na fração de carbonatos, tanto para dejetos brutos quanto para biodigeridos. Ambos os metais aumentaram significativamente a concentração na fração residual após a biodigestão anaeróbia atingindo níveis próximos a 25%.

Outro ponto observável na Figura 6 é a variação da composição de EB, referente a distribuição de Cu e Zn entre as diferentes frações. Esse fato possivelmente é derivado do fato da estação de tratamento de dejetos suínos (ETDS) receber dejetos de duas diferentes granjas, sendo que cada uma possui calhas onde armazenam o efluente antes de enviar para o tratamento. O tempo que o dejetos fica armazenado nas calhas pode influenciar a distribuição dos metais.

Quando EB ou ET são aplicados no solo, as frações 1, 2 e 3 são facilmente absorvidas pelos organismos vivos presentes no ambiente. Então, essas frações podem ser identificadas como de efeito direto (CHEN *et al.* 2008).

Já a fração oxidável (fração 4) é mobilizada somente em condições oxidantes sendo transformada nas frações 1, 2 e 3. (YAO *et al.*, 2010). Portanto, o potencial como ecotóxico não deve ser ignorado e a fração oxidável pode ser identificada como uma fração com potencial poluidor, dependendo das características do solo em que for aplicada.

5.6 Comparação do processo de extração química sequencial BCR original e modificado para fracionamento de cobre e zinco em EB e ET

Para comparar as extrações químicas sequenciais com o método BCR original e modificada, foram feitas as digestões totais do dejetos suíno “in natura”(EB) e biodigerido (ET) para analisar as concentrações totais dos metais.

A Tabela 8 apresenta as médias das concentrações totais de cobre e zinco, esses resultados são importantes para os ensaios de recuperação após a especiação química sequencial.

Tabela 10. Concentração total de Zn e Cu e seu intervalo de confiança padrão em dejetos suíno EB e ET.

Metal	Amostra	Concentração média mg.L ⁻¹	Intervalo de Confiança* (mg.L ⁻¹)
Zn	EB	39,75	39,69 – 39,80
	ET	47,25	47,22 – 47,27
Cu	EB	7,82	7,80 – 7,84
	ET	10,61	10,59 – 10,62

* 95% de confiança

Os resultados obtidos pela extração química sequencial com os métodos BCR original e modificado em EB e ET estão apresentados nas tabelas 11 (Zn) e 12 (Cu).

Tabela 11. Fracionamento de Zn (mg.L⁻¹) em dejetos EB e ET.

Ponto	Método	F1 (mg.L ⁻¹)	F2 (mg.L ⁻¹)	F3 (mg.L ⁻¹)	F4 (mg.L ⁻¹)	F5 (mg.L ⁻¹)	Σ (mg.L ⁻¹)	Recuperação %
EB	BCR							
	Original	1,143 ±0,224	1,863 0,354	4,523 ±0,339	28,957 ±1,013	0,959 ±0,120	37,443	94,19
	% da fração	3,05	4,97	12,07	77,34	0,95		
	Modificado	1,165 ±0,088	1,987 ±0,1797	3,530 ±0,015	30,469 ±0,919	1,036 ±0,147	38,188	96,07
	% da fração	3,05	5,20	9,24	79,78	1,03		
ET	Original	0,827 ± 0,040	2,312 ±0,075	3,510 ±0,382	31,655 ±1,476	1,092 ±0,153	39,397	83,38
	% da fração	2,10	5,87	8,90	80,35	2,77		
	Modificado	0,785 ±0,040	1,937 ± 0,676	4,115 ± 0,093	31,590 ± 3,922	1,085 ± 0,118	39,513	83,62
	% da fração	1,98	4,90	10,41	79,95	2,75		

Houve diferença significativa na especiação química sequencial de zinco durante a fração 3 (reduzível), tanto em EB (p=0,0074) quanto para ET (p=0,0399). Porém

ocorreu uma maior extração de Zn com o método original em EB, e com o método modificado em ET. Nemati *et al.*, (2009), encontraram menor quantidade de zinco na fração 3 quando utilizou o método BCR original comparando-o com o método BCR modificado, estudando lodo de tanques de produção de camarão. Esse resultado ressalta que a matriz ambiental tem grande influência na eficiência do método utilizado.

Tabela 12. Fracionamento de Cu (mg.L⁻¹) em dejetos EB e ET.

Ponto	Método	F1	F2	F 3	F4	F5	Σ	Recuperação
	BCR	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	%
EB	Original	0,108 ±0,051	0,130 0,016	0,053 ±0,015	4,447 ±0,298	1,803 ±0,449	6,540	83,68
	% da fração	1,37	1,66	0,67	56,91	23,06		
	Modificado	0,108 ±0,048	0,143 ±0,019	0,107 ±0,022	4,85 ±0,174	1,347 ±0,328	6,556	83,87
	% da fração	1,37	1,83	1,37	62,06	17,24		
ET	Original	0,925 ± 0,010	0,175 ±0,058	0,075 ±0,040	5,080 ±0,161	3,990 ±0,775	9,413	88,75
	% da fração	0,87	1,65	0,70	47,90	37,63		
	Modificado	0,095 ±0,058	0,127 ± 0,030	0,093 ± 0,010	6,187 ± 0,118	2,577 ± 0,692	9,080	85,62
	% da fração	0,89	1,20	0,87	58,35	24,30		

Nas análises de cobre houve diferença significativa entre os métodos para EB ($p=0,0063$) e ET ($p=0,4317$) na fração 3 (reduzível), ambos casos o método modificado extraiu maior quantidade do metal. Essa diferença pode ser atribuída ao aumento na concentração de cloridrato de hidroxilamina e a diminuição do pH para 1,5 na solução extratora, pois de acordo com Filgueiras *et al.*, (2002) nessas condições o reagente pode liberar metais associados com a fração de silicato durante a extração da fração 3. Nemati *et al.*, (2009) encontraram maior quantidade de cobre na fração reduzível quando utilizou o método BCR original comparando-o com o método BCR modificado, estudando lodo de tanques de produção de camarão. Esse resultado nos mostra que tanto a o metal a ser extraído influencia na eficiência do método escolhido. Nas frações 4 (oxidável) e 5 (residual) houve diferenças significativas apenas em ET, sendo $p<0,0001$ e $p=0,0348$, respectivamente.

Não foi observado melhora clara com a utilização do método BCR modificado em comparação com o método original. Os resultados obtidos estão de acordo com as conclusões de Massop & Davidson, (2003), onde também não foi constatada a melhora na precisão da especiação com a utilização do método BCR modificado.

6. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que é possível utilizar análises de carbono orgânico total (COT) para estimar valores de DQO e SV, diminuindo o tempo necessário para as análises bem como a geração de resíduos.

O aumento da carga orgânica no biodigestor apresentou uma alta capacidade máxima de geração de biogás (CMGB) por sólido volátil adicionado. Este efeito é acentuado pela redução do TRH sendo observado um aumento da CMGB de cerca de seis vezes quando a carga orgânica volumétrica é aumentada de 0,436 para 1,853 kgSV.m⁻³.d⁻¹ com TRH sendo reduzido de 17,86 dias para 5,32 dias. Isto é altamente significativo para o sistema proposto quando o objetivo visa a produção de biogás. No entanto, a redução de DQO seguiu um efeito contrário a CMGB, ou seja, para menores TRHs a capacidade de mineralização do biodigestor foi reduzida afetando a qualidade do seu efluente.

Ocorreu uma grande variação das concentrações de zinco e cobre no efluente da suinocultura. As concentrações de cobre atendem as exigências da resolução CONAMA 375 para aplicação do lodo como condicionador de solo para agricultura, nos três casos estudados. Porém, as concentrações de zinco sempre foram superiores ao permitido. Em nenhum caso estudado, as concentrações destes metais em dejetos suínos atenderam as exigências da resolução CONAMA 430, que regulamenta o descarte em corpos d'água.

Tanto em EB quanto em ET, a maior concentração dos dois metais estudados encontra-se ligado a fração oxidável. O processo de biodigestão anaeróbia alterou as distribuições de Zn e Cu nas etapas 1 e 2, diminuindo porcentagem na fração redutível e aumentando na fração oxidável. O TRH demonstrou ser um parâmetro importante, pois em TRH menor (Etapa 3), ocorreu uma menor influência na distribuição de Zn e Cu.

As concentrações dos metais nas frações mais biodisponíveis ao ambiente foram sempre menores do que a da fração oxidável, mostrando que a maior parte dos metais não está prontamente disponível os micro-organismos anaeróbios, e nem ao solo em caso de utilização como fertilizante orgânico.

Nenhuma melhoria clara durante a especiação foi obtida com o uso do protocolo BCR modificado quando comparado ao BCR original. No entanto, é possível que esta melhoria fique mais evidente em análises efetuadas em fontes que os potenciais de variabilidade da fração redutível sejam maiores do que no presente trabalho, onde a maior parcela dos metais de interesse se encontraram na fração oxidável.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar as concentrações de Cu e Zn inibidoras para biodigestão anaeróbia de dejetos suínos, através de testes de laboratório em batelada;
- Realizar ensaios de distribuições de metais com efluente suínico proveniente de cada fase de criação do animal;
- Reproduzir o estudo em diferentes configurações físicas de biodigestores;
- Estudar o efeito de tratamentos pós biodigestão anaeróbia na distribuição de cobre e zinco;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O.; ORBAN, J.I. Chemical composition and nutrient digestibility of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) fed to growing pigs. *Journal of Cereal Science*, v.22, p.177-184, 1995.

AHN, H.K., SMITH, M.C., KONDRAD, S.L., WHITE, J.W. Evaluation of biogas production potential by dry anaerobic digestion of switchgrass–animal manure mixtures. *Appl. Biochem. Biotechnol.* v.160, p. 965–975, 2009.

AHNSTROM, Z.S., PARKER, D.R.. Development and assessment of a sequential extraction procedure for the fractionation of soil cadmium. *Soil Sci. Soc. Am. J.*,v. 63, p.1650-1658, 1999.

AMARAL, A. C. ; KUNZ, A. ; CANTELLI, F. ; STEINMETZ, R. . Acompanhamento de um biodigestor de fluxo ascendente para tratamento de efluentes da suinocultura. In: 5 Jornada de iniciação científica Embrapa, 2011, Concórdia. 5ª Jornada de Iniciação científica Embrapa-JINC, 2011. p. 16.

ANJU, M., BANERJEE, D.K. Comparison of two sequential extraction procedures for heavy metal partitioning in mine tailings. *Chemosphere*, V.78, p.1393- 1402, 2010.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for examination of water and wastewater. 22st. ed. Washington: APHA, 2012.

APPELS, L., BAEYENS, J., DEGREVE, J., DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in energy and combustion science*. V. 34, p.755-581, 2008.

AQUINO, S. F., STUCKEY, D. C., Integrated model of the production of soluble microbial products (SMP) and extracellular polymeric substances (EPS) in anaerobic chemostats during transient conditions. *Biochemical Engineering Journal*, V. 38, , P.138-146, 2008

ARTORA, A., BALAGUER, M. D., RIGOLA, M. Competitive biosorption of copper, cadmium, nickel and zinc from metal ion mixtures using anaerobically digested sludge. *Process Metallurgy*, V.9, P. 175-183, 1999.

BACON, J.R., DAVIDSON, C.M.: Is there a future for sequential chemical extraction? *Analyst* v. 133, 2008

BAO, Q., LIN Q., TIAN, G., YU., J., PENG, G. Copper distribution in water-dispersible colloids of swine manure and its transport through quartz sand. *Journal of Hazardous Materials*, V.186, p.1660-1666, 2011.

BOE K. Online monitoring and control of the biogas process. Ph.D. Thesis, Institute of Environment & Resources, Technical University of Denmark, 2006.

BOLAN, N.S.; ADRIANO, D.C.; MAHIMAIRAJA, S.; Distribution and bioavailability of trace elements in livestock and poultry manure. *Crit. Rev. Environ. Sci. Tech.* 34, 2004.

BONMATI, A., FLOTATS, X., MATEU, L., CAMPOS, E. Study of thermal hydrolysis as a pretreatment to mesophilic anaerobic digestion of pig slurry. *Water Sci. Technol.* V.44, n.4, p.109–116, 2001.

BUYKX, S. E. J.; BLEIJENBERG, M.; VAN DEN HOOP, M. A. G. T.; LOCH, J. P. G. The effect of oxidation and acidification on the speciation of heavy metals in sulfide-rich freshwater sediments using a sequential extraction procedure. *Journal of Environmental Monitoring*, 2000.

CAMPOS, C. M. M.; CARMO, F. R.; BOTELHO, C. G.; COSTA; C. C. Desenvolvimento e operação de reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) no tratamento dos efluentes da suinocultura em escala laboratorial. *Ciência e Agrotecnologia*, v.30, n.1, p.140-147, 2006.

CHAE, K.J., JANG, A., YIM, S.K., KIM, I.S. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*. V.99, p-1-6, 2008.

CHEN, M.; LI, X.; YANG, Q.; ZENG, G.; ZHANG, Y.; LIAO, D.; LIU, J.; HU, J.; GUO, L. Total concentration and speciation of heavy metals in municipal sludge from Changsha, Zhuzhou and Xiangtan in middle-south region of China. *Journal of Hazardous Materials*, 2008.

CHERNICHARO, C. A. L., *Reatores anaeróbios*. 2. ed. Minas Gerais: UFMG, 2007.

CONAMA (Brasil). Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA.. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 16, mai. de 2011 Disponível em: <<http://www.in.gov.br/imprensa>>. Acesso em 11 jul. 2012.

CONAMA (Brasil). Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução Nº 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para uso agrícola de lodos de esgotos..., e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30 ago. 2005. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/imprensa>>. Acesso em 11 jul. 2012.

COSTA, D. F. Geração de energia elétrica a partir do biogás do tratamento de esgoto. 2006. f.194. Programa Interunidades de Pós-Graduação em Energia – PIPGE (EP/FEA/IEE/IF). Universidade de São Paulo – USP, São Paulo.

DABROWSKA, L.; ROSINSKA, A. Change of PCB and forms of heavy metals in sewage sludge during thermophilic anaerobic digestion. *Chemosphere*, 2012.

DAVIDSON, K., ISHIBASHI, K., GULL, T. R., & HUMPHREYS, R. M. in ASP Conf. Ser. 179, Carinae at the Millennium, ed. J. A. Morse, R. M. Humphreys, & A. Damineli (San Francisco: ASP), 1999.

DEUBLEIN D. STEINHAUSER. A Biogas from Waste and Renewable Resources – An Introduction Wiley-VCH, Weinheim, 2008.

DIAZ, I. LOPES A.C., PÉREZ S.I., FDZ-POLANCO M. Performance evaluation of oxygen, air and nitrate for the microaerobic removal of hydrogen sulphide in biogas from sludge digestion. *Bioresource Technology*, V. 101, P. 7724-7730, 2010.

DOURMAD, J.-Y.; POMAR, C.; MASSE, D. Modélisation du flux de composés à risque pour l'environnement dans un élevage porcin. *Journées de la Recherche Porcine*, v.34, p.183-194, 2002.

ELEFSINIOTIS, P., WAREHAM, D.G. Utilization patterns of volatile fatty acids in the denitrification reaction. *Enzyme Microb. Technol.*, v. 41, n. 1-2, p. 92-97, 2007.

ERMLER U. On the mechanism of methyl-coenzyme M reductase. *Dalton Trans* p. 3451, v.8, 2005.

ESQUERRA, R.G.; HARRELL, R. Zinco e cobre como promotores de crescimento para suínos. IV Simpósio Brasil Sul de suinocultura. Brasil, 2011.

ETTLER, V., KRIBEK, B., MAJER, V., KNESL, I., MIHALJEVIC, M. Differences in the bioaccessibility of metals/metalloids in soils from mining and smelting areas. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 113, p. 68-75, 2012.

EVANS, G.M., FURLONG, J.C. *Environmental Biotechnology: Theory and Application*. 2nd Edition, West Sussex, UK, John Wiley & Sons Ltd. 293 pages. ISBN: 978-0-470-97538-1. 2011.

FERMOSO, F. G., BARTACEK, J., JANSEN, S., LENS, P. N. L. Metal supplementation to UASB bioreactors: from cell-metal interaction to full-scale application. *Science of the total environment.*, v.407, p. 3652 – 3667, 2009.

FRANZLE S, MARKERT B. The Biological System of the Elements (BSE)—a brief introduction into historical and applied aspects with special reference on “ecotoxicological identity cards” for different element species (e.g. As and Sn). *Environ Pollut* v.120, p.27–45, 2002.

FUENTES, A.; LLORÉNS, M.; SÁEZ, J.; AGUILAR, M.; ORTUÑO, J.F.; MESEGUER, V.F. Comparative study of six different sludges by sequential speciation of heavy metals. *Bioresource Technology*, 2008

FILGUEIRAS, A. V.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C., Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *Journal of Environmental Monitoring*, 2002.

GASPAR, R.M.B.L. Utilização de biodigestores em pequenas e médias propriedades rurais, com ênfase na agregação de valor: um estudo de caso na região de Toledo-PR. 2003. Mestrado (Dissertação). Universidade Federal de Santa Catarina. 2003

GAUDRÉ, D., QUINIOU, N. What mineral and vitamin levels to recommend in swine diets? *Rev. Bras. Zootec.*, v.38, supl. especial, p.190-200, 2009.

GONZALEZ-GIL G, JANSEN S, ZANDVOORT M, VAN LEEUWEN HP. Effect of yeast extract on speciation and bioavailability of nickel and cobalt in anaerobic bioreactors. *Biotechnol Bioeng* , v.42, 2003

GERARDI, M. H., *The microbiology of anaerobic digesters. Wastewater microbiology series.* Ed. Wiley-Interscience, 2003.

GONZALEZ-GIL G, LENS PNL, VAN AELST A, VAN AS H, VERSPRILLE AI, LETTINGA G. Cluster structure of anaerobic aggregates of an expanded granular sludge bed reactor. *Applied and Environmental Microbiology* v. 67, 2001.

GÓMEZ ARIZA, J. L.; GIRÁLDEZ, I.; SÁNCHEZ-RODAS.; MORALES, E. Metal sequential extraction procedure optimized for heavily polluted and iron oxide rich sediments. *Analytica Chimica Acta*, v.414, 2000.

HALL, G. E. M.; GAUTHIER, G.; PELCHAT, J. C.; PELCHAT, P.; VAIVE, J. E. Application of a sequential extraction scheme to ten geological certified reference materials for the determination of 20 elements. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v.11, 1996.

HELTAI G., PERCSICH K., FEKETE I., BARABÁS B., JÓZSA T. Speciation of waste water sediments. *Microchem. n.* 67, p. 43-51, 2000.

HORI, T., HARUTA, S., UENO, Y., ISHII, M., AND IGARASHI, Y. Dynamic transition of a methanogenic population in response to the concentration of volatile fatty acids in a thermophilic anaerobic digester, *Appl. Environ. Microbiol.* v.72, p.1623-1630, 2006.

HOROWITZ A.J., ELDRICK K.A. Surface area and its interrelation with grain size, geochemical phase and sediment-trace element chemistry *Appl. Geochem.*, v.2 , 1987.

HWANG M.H., JANG N.J., HYUM S.H., KIM I.S. Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH *J Biotechnol*, v.111, p. 297–309, 2004.

IBGE, Sistema de Recuperação Automática de Dados. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em 12 de mai. de 2012.

JANSEN S, GONZALEZ-GIL G, VAN LEEUWEN HP. The impact of Co and Ni speciation on methanogenesis in sulfidic media — biouptake versus metal dissolution. *Enzyme Microb Technol*;v. 40, 2007.

JINGURA, R.M., MATENGAIFA, R, Optimization of biogas production by anaerobic digestion for sustainable energy development in Zimbabwe. *Renew. Sust. Energy Rev.* v.13, p. 1116–1120, 2009.

JONDREVILLE, C.; PREVY, P.S.; JAFFREZIC, A. et al. Le cuivre dans l'alimentation du porc : oligo-élément essentiel, facteur de croissance et risque potentiel pour l'homme et l'environnement. *INRA Productions Animales*, v.15, n.4, p.247-265, 2002.

JONG T, PARRY DL. Heavy metal speciation in solid-phase materials from a bacterial sulfate reducing bioreactor using sequential extraction procedure combined with acid volatile sulfide analysis. *J Environ Monit.* V.6, 2004.

JUNIOR, M. A. O., ORRICO, A. C. A., JÚNIOR, J. L. Avaliação de parâmetros da biodigestão anaeróbia de suínos alimentados com dietas a base de milho e sorgo. *Revista de engenharia agrícola*, Jaboticabal, v. 30, n.4, p.600-607, 2010.

KAFLE, G. K., KIM, S. H. Anaerobic treatment of apple waste with swine manure for biogas production: Batch and continuous operation. *Applied Energy*, V.103, p. 61-72, 2013.

KAPARAJU, P., SERRANO, M., ANGELIDAKI, I. Optimization of biogas production from wheat straw stillage in UASB reactor. V.87, P.3779-3783, 2010.

KARTAL, S.; AYDIN, Z. TOKALIOGLU, S. Fractionation of metals in street sediment samples by using the BCR sequential extraction procedure and multivariate statistical elucidation of the data. *Journal of Hazardous Materials*, 2006

KARRI S, SIERRA-ALVAREZ R, FIELD JA. Toxicity of copper to acetoclastic and hydrogenotrophic activities of methanogens and sulfate reducers in anaerobic sludge. *Chemosphere.* V.62, 2006.

KERSTEN, M., FORSTNER, U. Chemical fractionation of heavy metals in anoxic estuarine and coastal sediments. *Water Science and Technology*, v. 18, 1995.

KIM W., SHIN S. G., CHO K., LEE C., HWANG S. Performance of methanogenic reactors in temperature phased two-stage anaerobic digestion of swine wastewater. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. V.. 114 N.. 6, p. 635- 639, 2012

KIRATLI N. , ERGIN M. Partitioning of heavy metals in surface Black Sea sediments. *Applied Geochemistry*, v.11, p. 775-788, 1996.

KRISHNAMURTI, G. S. R.; HUANG, P. M.; VAN REES, K. C. J.; KOZAK, L. M.; ROSTAD, H. P. W. Speciation of particulate-bound Cadmium of soils and its bioavailability. *Analyst*, 1995.

KUNZ, A. & JARDIM, W.F. Complexation and adsorption of copper in raw sewage. *Water Research*, 2000

KUNZ, A.; OLIVEIRA, L. Sistema e método de análise química qualitativa e quantitativa de gás. P. I. 0706174-9 (Patente). 2009.

KUNZ, A., SCHIERHOLT, G., MENOZZO, G.F., BORTOLI, M., RAMME, M., COSTA, R. Estação de tratamento de dejetos de suínos (ETDS) como alternativa na redução do impacto ambiental da suinocultura. *Comunicado Técnico, Embrapa Suínos e Aves* n.452, p. 1–6, 2006.

KUNZ, A. ; ENCARNACAO, R. . Tratamento de dejetos de animais. In: Gebbler, L. ; Palhares, J.C.P.. (Org.). *Gestão Ambiental na Agropecuária*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 167-191, 2007.

KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ, R. L. R. Advanced swine manure treatment end utilization in Brazil. *Bioresource Technology*, v.100, n.22, p.5485-5489, 2009 (a).

KUNZ, A.; STEINMETZ.R. L. R.; RAMME, M. A.; COLDEBELLA, A. Effect of storage time on swine manure solid separation efficiency by screening. *Bioresource Technology*, v.100, n.5 p.1815-1818, 2009 (b).

LASHEEN, M.R.; AMMAR, N.S. Assessment of metals speciation in sewage sludge and stabilized sludge from different wastewater treatment plants, Greater Cairo. *Journal of Hazard Materials*, 2009.

LEE, M., HIDAKA, T., HAGIWARA, W., TSUNO, H. Comparative performance and microbial diversity of hyperthermophilic and thermophilic co-digestion of kitchen garbage and excess sludge. *Bioresour. Technol.* v.100, p. 578–585, 2009.

LI, P.; WANG, Y.; WANG, Y.; LIU, K.; TONG, L. Bacterial community structure and diversity during establishment of an anaerobic bioreactor to treat swine wastewater. *Water Science & Technology*, Kidlington, v. 61, n. 1, p 243–252. 2010.

LIMA, F. P. Energia no tratamento de esgoto: análise tecnológica e institucional para conservação de energia e uso do biogás. 2005. f.139. Programa Interunidades de Pós-

Graduação em Energia – PIPGE (EP/FEA/IEE/IF). Universidade de São Paulo – USP, São Paulo.

LIN C-Y, CHEN C. C. Toxicity-resistance of sludge biogranules to heavy metals. *Biotechnol Lett.* V. 19, 1997

LIN C-Y, CHEN C. C. Effect of heavy metals on the methanogenic UASB granule. *Water Res.* v.33, 1999

MARCATO, C. E.; PINELLI, E.; CECCHI, M.; WINTERTON, P.; GUIRESSE, M. Bioavailability of Cu and Zn in raw and anaerobically digested pig slurry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009.

MARIN, B.; VALLADON, M.; POLVE, M., MONACO, A. Reproducibility testing of a sequential extraction scheme for the determination of trace metal speciation in a marine reference sediment by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta.* 1997.

MASSOP, K. F.; DAVIDSON, C. M. Comparison of original and modified BCR sequential extraction procedures for the fractionation of copper, iron, lead, manganese and zinc in soils and sediments. *Analytica Chimica Acta*, 2003.

McGRATH S. P., CEGARRA J. Chemical extractability of heavy metals during and after long-term applications of sewage sludge to soil. *European Journal of Soil Science* v, 43, p. 313-321, 1982.

METCALF & EDDY; *Wastewater Engineering: Treatment and reuse.* 4th ed. New York, Ed. McGraw Hill USA, 2003.

NAMGUNG H. K., AHN H., SONG J. Development of a two-phase bioreactor for the biological removal of hydrogen sulfide from biogas. *Energy Procedia*, v. 14, p.1143-1148, 2012.

NEMATİ, K.; BAKAR, N. K. A.; SOBHANZADEH, E.; ABAS, M. R. A modification of the BCR sequential extraction procedure to investigate the potential mobility of copper and zinc in shrimp aquaculture sludge. *Microchemical Journal*, 2009.

NORRSTRÖM, A. C.; JACKS, G. Concentration and fractionation of heavy metals in roadside soils receiving de-icing salts. *The Science of the Total Environment*, v. 218, , p. 161-174, 1998.

OLESZKIEWICZ JA, SHARMA VK. Stimulation and inhibition of anaerobic processes by heavy-metals — a review. *Biol Wastes.* V. 31, 1990.

OLIVEIRA, P.A.V., HIGARASHI, M.M, Geração e utilização de biogás em unidades de produção de suínos. Documentos 115 Embrapa Suínos e Aves. 2006

PEREIRA, E.R.; Qualidade da água residuária em sistemas de produção e de tratamento de efluentes de suínos e seu reuso no ambiente agrícola. 2006. 124f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

POPOVIC, O., JENSEN, L. S. Storage temperature affects distribution of carbon, VFA, ammonia, phosphorus, copper and zinc in raw pig slurry and its separated liquid fraction. *Water Research*, V. 46, P. 3849-3858, 2012.

PIPATMANOMAI, S., KAEWLUAN, VITIDSANT, S. T. Economic assessment of biogas-to-electricity generation system with H₂S removal by activated carbon in small pig farm. *Applied Energy*, V.86, p. 669-674, 2009.

RAM MS, SINGH L, SURYANARAYANA MVS, ALAM SI. Effect of iron, nickel and cobalt on bacterial activity and dynamics during anaerobic oxidation of organic matter. *Water Air Soil Pollut.* V. 117, 2000.

RASI, A. VEIJANEN, J. RINTALA. Trace compounds of biogas from different biogas production plants *Energy*, V.32, p. 1375-1380, 2007.

RAURET, G.; LOPES-SANCHES, J. F.; SAHUQUILLO, A.; BARAHONA, E.; LACHICA, M.; URE, A. M.; DAVIDSON, C. M.; GOMEZ, A.; LUCK, D.; BACON, J. YLI-HALLA, M.; MUNTAU, H.; QUEVAUVILLER, Ph., Application of a modified BCR sequential extraction (three-step) procedure for the determination of extractable trace metal contents in a sewage sludge amended soil reference material (CRM 483), complemented by a three-year stability study of acetic acid and EDTA extractable metal content. *Journal of Environmental Monitoring*, 2000.

REHM HJ, REED G, PÜHLER A, STADLER PJW. *Biotechnology*, vol. 11A: Environmental processes I, 2nd ed. New York: Wiley, 2000.

RODRIGUES, L. S., SILVA, J. I., ZOCRATO, M. C. O., PAPA, D. N., SPERLING, M. V., OLIVEIRA, P. R. Avaliação de desempenho de reator UASB no tratamento de águas residuárias de suinocultura. *Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental*. V. 14, n.1, p.94-100, 2010.

SEGANFREDO, M. A. *Gestão Ambiental na Suinocultura*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

SLAVEK, J.; WOLD, J.; PICKERING, W. F. Selective extraction of metal ions associated with humic acids. *Talanta*, v. 29, p.743-749, 1982.

SOUZA, CECÍLIA F., LUCAS JÚNIOR, JORGE DE AND FERREIRA, WILLIAMS P. M. Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos sob efeito de três temperaturas e dois níveis de agitação do substrato: considerações sobre a partida. *Eng. Agríc.* v.25, n.2, p.530-539, 2005.

STEINMETZ, R.L.R., KUNZ, A., DRESSLER, V.L., FLORES, E.M.M., MARTINS, A.F.; Study of metal distribution in raw and screened swine manure. *Clean-Journal*. v.37, n.3, p.239-244, 2009 a.

STEINMETZ, R.; BORTOLI, M.; PRA, J. C.; KUNZ, A.; Estudo comparativo entre concentrações de carbono total (CT) e demanda química de oxigênio (DQO) em amostras de efluentes da suinocultura. In: Livro de resumos da 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, 2009.

SUN, H., Ge, X., Lv, Y., WANG, A. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *Journal of Chromatography* v. 1237, 2012.

SUZUKI, K.; WAKI, M.; YASUDA, T.; FUKUMOTO, Y.; KURODA, K.; SAKAI, T.; SUZUKI, N. SUZUKI, R. ; MATSUBA, K. Distribution of phosphorus, copper and zinc in activated sludge treatment process of swine wastewater. *Bioresource Technology*, v.101, p. 9399-9404, 2010.

TABATABAEIA, M. B.; RAHIM, R. A.; ABDULLAH, N.; WRIGHT, A. D.; Importance of the methanogenic archaea populations in anaerobic wastewater treatments. *Process Biochemistry*, 2010.

THEIS, T.L., HAYES, T.D. Chemistry of heavy metals in anaerobic digestion. In: Rubin, A.J. (Ed.), *Chemistry of Wastewater Technology*. Ann Arbor Science Publishers, Inc., Michigan, p. 403–419, 1978.

TULAYAKUL, P.; BOONSOONGNERN, A.; KASEMSUWAN, S.; WIRIYARAMPA, S., PANKUMNOED, J.; TIPPAYALUCK, S.; HANANANTACHAI, H.; MINGKHWAN, R.; NETVICHIAN, R.; KHAODHIAR, S. Comparative study of heavy metal and pathogenic bacterial contamination in sludge and manure in biogas and non-biogas swine farms. *Journal of Environmental Sciences*, 2011.

TESSIER A., CAMPBELL, P. G. C., BISSON M. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, V. 51, 1979

TUROVSKIY I.S., MATHAI P.K. *Wastewater sludge processing* Wiley, New York (2006)

UENO, Y., HARUTA, S., ISHII, M., AND IGARASHI, Y. Changes in product formation and bacterial community by dilution rate on carbohydrate fermentation by methanogenic microflora in continuous flow stirred tank reactor, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 57, p. 65-73, 2001.

URE A. M.; QUEVAUVILLER, PH.; MUNTAU, H.; GRIEPINK, B., Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization

of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the commission of the European Communities., journal of Environmental Analytic Chemistry Vol. 51, 1993.

URE A. M.; DAVIDSON C. M.; THOMAS, R.P., Quality Assurance for environmental analysis, Ed. Ph Quevauviller. Amsterdam, 1995.

URE A. M.; DAVIDSON, C.M., Chemical speciation in the environment Blackie, Glasgow, 2001.

VAN DER VEEN A. Schwefelspeziation und assoziierte Metalle in rezenten Sedimenten des Arendsees. Braunschweiger Geowiss. V.26,. 2004

VANOTTI, M. B., SZOGI, A. A. Water quality improvements of wastewater from confined animal feeding operations after advanced treatment. Journal Environmental Quality. V.37, p.86-96, 2008.

VIVAN M.; KUNZ, A.; STOLBERG, J.;PERDOMO, C.; TECHIO, V. H. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental, v.15, n.3, p. 320-325, 2010.

YAO, J.; LI, W.B.; KONG, Q.N.; WU, Y.Y.; HE, R.; SHEN, D.S. Content, mobility and transfer behavior of heavy metals in MSWI bottom ash in zhejiang province, China. Fuel, 2010.

YU, R. L., LIU, J., CHEN, A. Interaction mechanism of Cu^{2+} , Fe^{3+} ions and extracellular polymeric substances during bioleaching chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC2370. Transactions of Nonferrous Metals Society of China. V.23, p. 231-236, 2013

WELLINGER, A. Process design of agricultural digesters, Nova Energie GmbH, Elggerstrasse, Ettenhausen, Switzerland 1999.

WORMS I, SIMON D F, HASSLER C S, WILKINSON K J. Bioavailability of trace metals to aquatic microorganisms: Importance of chemical, biological and physical processes on biouptake. Biochimie v. 88, 2006.