



Núcleo de Meio Ambiente  
Universidade Federal do Pará  
Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá  
Belém, Pará, Brasil

<https://periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas>

**Lauren Nozomi Marques Yabuki**

Universidade Estadual Paulista  
lauren.yabuki@unesp.br

**Camila Marques dos Reis da Silva**

Universidade Estadual Paulista  
camila.reis.silva@gmail.com

**Mirian Yasmine Krauspenhar Niz**

Universidade de São Paulo  
mirian.niz@gmail.com

**Amauri Antonio Menegário**

Universidade Estadual Paulista  
amauri.antonio-menegario@unesp.br

**Marcelo Loureiro Garcia**

Universidade Estadual Paulista  
marcelo.garcia@unesp.br

Recebido em: 2020-02-21

Avaliado em: 2021-10-25

Aceito em: 2021-11-18

## MONITORAMENTO E REMOÇÃO DE METAIS NA DIGESTÃO ANAERÓBIA TERMOFÍLICA EXTREMA DE VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR

**RESUMO:** A determinação dos teores de elementos-traço e sua remoção é uma informação relevante para a compreensão dos processos metanogênicos envolvendo a digestão anaeróbia de diversos tipos de águas residuárias. Entretanto, ainda existem lacunas na avaliação de elementos-traço na digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar, devido à complexidade deste tipo de água residuária. Diante desse contexto, a concentração total dos elementos B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn e suas eficiências de remoção foram monitoradas em um reator de leito fixo estruturado (ASTBR) alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar sob condição de termofilia extrema. As concentrações máximas detectadas nas amostras de vinhaça de cana-de-açúcar foram 0,2; 0,05; 0,9; 12,7; 4,3; 0,15; 0,08; 0,05 e 1,1 mg L<sup>-1</sup> para B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn, respectivamente. As eficiências médias de remoção dos metais, em ordem decrescente, foram: Mn (80 ± 25%), Zn (78 ± 23%), Cu (77 ± 22%), Ni (68 ± 32%), Fe (63 ± 19%), V (60 ± 24%), B (60 ± 30%), Se (56 ± 22%) e Co (52 ± 22%). As eficiências de remoção dos elementos-traço que atingiram no mínimo 50%, indicam a capacidade do reator na remoção de micronutrientes e macronutrientes. A análise da concentração dos elementos-traço apresentadas neste estudo é importante e pode servir de base para estudos de impacto e monitoramento ambiental envolvendo a rota destes elementos-traço nas demais matrizes ambientais (por exemplo, solos, águas superficiais e subterrâneas) evitando impactos ambientais adversos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Processos anaeróbios, Remoção de metais, Subprodutos da cana-de-açúcar.

## MONITORING AND TRACE ELEMENTS REMOVAL IN SUGARCANE VINASSE SUBJECTED TO EXTREME THERMOPHILIC ANAEROBIC DIGESTION

**ABSTRACT:** The determination of trace elements contents and their removal is an important information for the understanding of methanogenic processes involving anaerobic digestion of various types of wastewater. However, there are still gaps in the trace elements determination for the anaerobic digestion of vinasse sugarcane due to the complexity of this type of wastewater. Therefore, the present study was reported the monitoring results of B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V and Zn concentrations and their removal efficiencies in an extreme thermophilic anaerobic structured-bed reactor treating sugarcane vinasse. The maximum concentrations detected in sugarcane vinasse samples were 0.2, 0.05, 0.9, 12.7, 4.3, 0.15, 0.08, 0.05 and 1.1 mg L<sup>-1</sup> for B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V, and Zn, respectively. The mean removal efficiencies of trace elements, in the decreasing order were: Mn (80 ± 25%), Zn (78 ± 23%), Cu (77 ± 22%), Ni (68 ± 32%), Fe (63 ± 19%), V (60 ± 24%), B (60 ± 30%), Se (56 ± 22%) and Co (52 ± 22%). The removal efficiencies of trace elements that have reached at least 50%, indicating the reactor capacity in the removal of micronutrients and macronutrients. The analysis of trace elements concentrations presented in this study is important and can be a basis of impact and environmental studies involving the trace elements fate in other environmental matrices (for example, soils, surface and groundwater) avoiding environmental impacts adverse.

**KEYWORDS:** Anaerobic process, Metal removal, Sugarcane sub products.

## MONITOREO Y REMOCIÓN DE METALES EN DIGESTIÓN ANAEROBIA TERMOFÍLICA EXTREMA DE VINAGRE DE CAÑA DE AZÚCAR

**RESUMEN:** La determinación del contenido de elementos traza y su remoción es información relevante para comprender los procesos metanogénicos que implican la digestión anaeróbica de diferentes tipos de aguas residuales. Sin embargo, todavía hay lagunas en la evaluación de elementos traza en la digestión anaeróbica de la vinaza de caña de azúcar, debido a la complejidad de este tipo de aguas residuales. En este contexto, la concentración total de elementos B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V y Zn y sus eficiencias de eliminación se monitorearon en un reactor de lecho fijo estructurado (ASTBR) alimentado con vinaza de caña de azúcar en condiciones de termofilia extrema. Las concentraciones máximas detectadas en las muestras de vinaza de caña de azúcar fueron 0.2; 0,05; 0.9; 12,7; 4.3; 0,15; 0,08; 0.05 y 1.1 mg L<sup>-1</sup> para B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V y Zn, respectivamente. Las eficiencias medias de remoción de metales, en orden decreciente, fueron: Mn (80 ± 25%), Zn (78 ± 23%), Cu (77 ± 22%), Ni (68 ± 32%), Fe (63 ± 19%), V (60 ± 24%), B (60 ± 30%), Se (56 ±

22%) y Co ( $52 \pm 22\%$ ). La eficiencia de la eliminación de elementos traza que alcanzó al menos el 50%, indica la capacidad del reactor para eliminar micronutrientes y macronutrientes. El análisis de la concentración de elementos traza presentado en este estudio es importante y puede servir como base para estudios de impacto y monitoreo ambiental que involucra la ruta de estos elementos traza en otras matrices ambientales (por ejemplo, suelos, aguas superficiales y subterráneas) evitando impactos ambientales adverso.

**PALABRAS CLAVES:** Proceso anaeróbico, remoción de metales, subproductos de caña de azúcar.

## INTRODUÇÃO

O etanol é um combustível renovável que representa promissora alternativa em relação aos combustíveis fósseis utilizados, onde já se evidencia que as emissões de gases em motores movidos a etanol são cada vez menores, quando comparados a motores movidos à gasolina e diesel (FAVA; RIBAS, 2012). Segundo a Associação de Combustíveis Renováveis - Renewable Fuels Association (RFA) (2017), o Brasil tem papel de destaque na produção de álcool a partir da cana-de-açúcar devido às suas condições climáticas e capacidade de expansão em face do extenso território brasileiro. Outros aspectos relacionados ao baixo custo de produção, balanço de energia e alta produtividade favorecem a produção

de etanol brasileiro a partir da cana-de-açúcar quando comparado a outras matérias-primas como milho, beterraba e trigo (LORA; ANDRADE, 2009; EL-ASSAD et al., 2016).

A promessa do bioetanol em substituição aos combustíveis fósseis será efetivamente sustentável se levar em conta todo o processo produtivo com o devido aproveitamento dos subprodutos gerados. Um dos principais subprodutos gerados do processamento industrial para a obtenção do etanol é a vinhaça. A vinhaça é gerada a elevada temperatura (85 a 90°C) e sua composição é variável em função da matéria-prima e processo produtivo adotado (WILKIE et al., 2000), mas geralmente, apresenta pH ácido entre 4,0 e 4,5 e altas concentrações de

matéria orgânica, sólidos suspensos, cálcio, potássio, magnésio, nitrogênio e fósforo (FUESS; GARCIA, 2014). Nas usinas sucroalcooleiras brasileiras, o volume de vinhaça produzida é estimado de 10 a 15 litros para cada litro de etanol (LOPES et al., 2016). O volume de produção de cana-de-açúcar na safra 2020/21 foi de 654,8 milhões de toneladas, com uma produção de 41,25 milhões de toneladas de açúcar e de 32,8 bilhões de litros de etanol. Considerando a produção de 32,8 bilhões de litros de etanol na safra 2020/21, foram gerados cerca de 426 bilhões de litros de vinhaça (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2021).

Atualmente o principal, mais simples e barato destino dado à vinhaça é a aplicação no solo, na própria cultura de cana-de-açúcar devido aos nutrientes e ao seu teor de matéria orgânica (PRADO et al., 2013). A disposição de vinhaça em áreas agrícolas, especialmente em lavouras de cana-de-açúcar, pode vir a trazer benefícios indiscutíveis do ponto de vista agronômico, econômico e social

(GIACHINI; FERRAZ, 2009). Entretanto, devido ao elevado volume gerado desse efluente, esta prática quando aplicada em excesso e por longos períodos pode causar uma série de problemas ambientais como a salinização/acidificação do solo, lixiviação e possível contaminação do lençol freático e corpos d'água vizinhos (CANÇADO et al., 2013).

Segundo Fuess e Garcia (2014), a hiperfertilização do solo pode acarretar efeitos secundários, tais como a desestabilização da estrutura do solo, bem como a eutrofização dos corpos d'água fornecidos por escoamentos ricos em nutrientes. Ademais, a aplicação inadequada de vinhaça no solo pode levar ao risco de contaminação do solo e das águas subterrâneas e superficiais pela presença de íons amônio, nitrato e cloreto, além de metais potencialmente tóxicos (principalmente Al, Fe, Cu, Cr, Ni, Pb e Zn) (SOTO; BASSO; KIANG, 2017). A legislação ambiental brasileira através da Portaria nº 323/1978 do extinto Ministério do Interior, proíbe o lançamento direto ou indireto da

vinhaça, em qualquer corpo hídrico (BRASIL, 1978). A disposição de vinhaça no solo agrícola do Estado de São Paulo foi regulamentada pela Norma Técnica P4.231/2005 que estabelece critérios e procedimentos para o armazenamento, transporte e aplicação da vinhaça, gerada pela atividade sucroalcooleira no processamento de cana de açúcar (com algumas alterações e revisões diante das observações efetuadas durante o período em que foi empregada e que mostraram a necessidade de serem reavaliadas) (CETESB, 2015).

,Diante do enorme volume gerado de vinhaça, da problemática de sua disposição no solo e da grande quantidade de matéria orgânica (biodegradável) presentes na vinhaça, uma alternativa viável para a redução do volume de vinhaça produzida, se encontra na digestão anaeróbia deste substrato, com a qual é possível gerar etanol e também produtos de valor agregado (biogás e/ou ácidos orgânicos) e obter um efluente final mais propício para a fertirrigação com

menor risco de contaminação ambiental (FUJESS; GARCIA, 2015). Com a utilização da vinhaça em biorreatores anaeróbios, a remoção de DQO pode ser de 65 a 95% e após o aproveitamento do biogás, o efluente tratado ainda rico nutrientes e com uma carga orgânica reduzida, pode ser melhor disposto em solos (DRIESSEN et al., 1994; WILKIE et al., 2000).

A digestão anaeróbia requer uma quantidade otimizada de macronutrientes básicos como carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, além de elementos-traço para a melhora da performance do biorreator quanto à produção de energia. Diversos autores tem destacado a importância dos elementos-traço na digestão anaeróbia estimulando a atividade metanogênica (SPEECE, 1996; OSUNA et al., 2003; ZANDVOORT et al., 2006; FERMOSO et al., 2009; DEMIREL e SCHERER, 2011; FACCHIN et al., 2013). Elementos-traço como por exemplo: cobalto, cobre, ferro, molibdênio, níquel, selênio, tungstênio e zinco são essenciais para a atividade dos microrganismos que catalisam

numerosas reações anaeróbias (WORM et al., 2009; TAKASHIMA, SHIMADA; SPEECE, 2011; ZHANG et al., 2012; GLASS; ORPHAN, 2012; JANKE et al., 2016). Por outro lado, a presença de certos metais em altas concentrações pode ser potencialmente tóxica, influenciando negativamente sobre o processo (CHEN et al., 2008; AQUINO et al., 2013). Portanto, a presença de tais nutrientes, em níveis balanceados, influenciam positivamente o desenvolvimento dos microrganismos e, conseqüentemente, o processo de digestão e de produção de biogás.

Embora o papel dos elementos-traço esteja bem fundamentado em outros tipos de águas residuárias, ainda existem lacunas sobre a identificação dos elementos-traço e sua importância para que a digestão da vinhaça seja consolidada e ocorra com maior estabilidade, devido à complexidade deste tipo de efluente. Portanto, objetivou mediante este estudo

monitorar a concentração total e remoção de diversos elementos-traço (boro, cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio, níquel, selênio, tungstênio, vanádio e zinco) por meio da biodigestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar em um reator de leito fixo sob condição de termofilia extrema.

## MATERIAL E MÉTODOS

### CONFIGURAÇÃO OPERACIONAL/ EXPERIMENTAL

A operação, caracterização da vinhaça e o monitoramento do reator foi realizado no Laboratório de Processos Biológicos (LPB / EESC / USP), de acordo com estudos de Niz (2019). A vinhaça de cana-de-açúcar utilizada nos experimentos foi coletada no grupo sucroalcooleiro São Martinho (Pradópolis - SP/Brasil) nas safras de 2016 e 2017 e caracterizada quanto aos principais parâmetros físico-químicos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição físico-química da vinhaça bruta (média  $\pm$  desvio, n = 4).

<b>Parâmetros</b>	
pH	4.6 $\pm$ 0.1
DQO total (TCOD, mg. L <sup>-1</sup> )	32681 $\pm$ 13460
DQO solúvel (SCOD, mg. L <sup>-1</sup> )	27022 $\pm$ 10526
Carbono orgânico total (TC, mg. L <sup>-1</sup> )	9927 $\pm$ 2753
Sólidos suspensos totais (TSS, mg. L <sup>-1</sup> )	6334 $\pm$ 1980
Sólidos suspensos voláteis (mg. L <sup>-1</sup> )	5488 $\pm$ 1818
Sulfato (mg. L <sup>-1</sup> )	1613 $\pm$ 536
<b>Metais</b>	
Cobre (mg. L <sup>-1</sup> )	0.297 $\pm$ 0.185
Ferro (mg. L <sup>-1</sup> )	7.7 $\pm$ 2.4
Manganês (mg. L <sup>-1</sup> )	3.0 $\pm$ 0.8
Níquel (mg. L <sup>-1</sup> )	<LD
Zinco (mg. L <sup>-1</sup> )	0.5 $\pm$ 0.1

<LD: valores abaixo do limite de detecção

O reator utilizado para os experimentos foi o reator de leito fixo estruturado (ASTBR - Anaerobic Structured-Bed Reactor) preenchidos com espuma de poliuretano presas a hastes de aço inoxidável (CAMILOTI et al., 2013; MOCKAITIS et al., 2014), com volume útil de 2,4 L, operado sob condições termofílicas extremas (70 °C) em sequência a um reator acidogênico (alimentado com a vinhaça bruta caracterizada da Tabela 1). Afim de manter a carga orgânica volumétrica estável (COV, 5 kgDQO. m<sup>-3</sup>. d<sup>-1</sup>), devido a variações das concentrações de matéria orgânica provindas dos lotes de vinhaça, o tempo de detenção hidráulica (TDH) variou de 4 a 7 dias.

O monitoramento dos reatores foi realizado por meio de amostras das correntes afluentes e efluentes coletadas para verificação dos parâmetros de pH, DQO e sólidos suspensos de acordo com APHA/AWWA/WPCF (2005), sendo que para a análise de DQO solúvel, as amostras foram filtradas em filtro 0,45  $\mu$ m.

A vazão de biogás foi monitorada com um medidor de gás modelo MGC-1 V30 (Ritter®). A composição do biogás (hidrogênio, dióxido de carbono e metano) foi determinada com um cromatógrafo gasoso (GC 2010, Shimadzu) equipado com um detector de condutividade térmica (TCD) usando argônio como gás transportador e uma

coluna capilar CARBOXEN 1010 (30 m, 0,53 mm) (PERNA et al., 2013). O desempenho do reator foi avaliado pelos parâmetros de eficiência de remoção de DQO ( $\epsilon$ , %) e produção volumétrica de metano (PVM, mLCH<sub>4</sub>. L<sup>-1</sup>. d<sup>-1</sup>).

#### ANÁLISE DOS ELEMENTOS-TRAÇO

O reator metanogênico foi operado durante 154 dias. As concentrações totais de B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn foram monitoradas nas correntes de entrada e saída do reator.

O preparo das amostras para posterior digestão e determinação da concentração total dos elementos-traço foi realizada no Centro de Estudos Ambientais (CEA / UNESP). Amostras das correntes de entrada e saída do reator foram coletadas semanalmente, colocadas em recipientes plásticos, acidificadas (HNO<sub>3</sub> 2% v/v) e armazenadas a 4 ° C até serem digeridas e analisadas.

O procedimento de digestão ácida por meio de bloco aquecedor foi adaptado por Dimpe et al. (2014) e Krug et al. (2016) onde 10 mL de

amostra de vinhaça bruta foram colocados em um tubo macro de borosilicato de vidro. Uma mistura ácida de água régia (HCl + HNO<sub>3</sub>, 3:1) foi adicionada e deixada *overnight* à temperatura ambiente para uma prévia digestão. Em seguida, as amostras foram digeridas em um bloco aquecedor (Tecnal TE 40-05) até a temperatura de 150 ° C por 4 a 6 horas. Os tubos de digestão foram cobertos para reduzir a perda de analito devido à vaporização da amostra. Após arrefecimento à temperatura ambiente, a solução foi transferida para tubos de centrífuga de polipropileno e diluídas para 30 - 50 ml com água ultrapura.

As amostras foram digeridas em duplicata e para fins de validação do método foram digeridas também amostras de branco do método (porção de água ultrapura processada exatamente como a amostra, incluindo exposição a todo equipamento, vidraria, procedimentos e reagentes), branco fortificado/spike (branco do método contendo todos os mesmos reagentes e preservativos como as amostras, no qual uma concentração



conhecida dos analitos é adicionada) e amostra fortificada/spike (porção adicional de uma amostra na qual, antes do seu processamento, são adicionadas quantidades conhecidas dos analitos de interesse) (ZHANG, 2007).

A concentração total dos elementos-traço foi analisada por meio da Espectroscopia de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) (iCAP 6000 Series, Thermo Scientific) de acordo com Método USEPA 6010 (USEPA, 2007). As condições operacionais do espectrômetro ICP OES foram: potência de rádio-frequência RF: 1150 W, configuração da tocha: vista axial/radial, vazão do gás de plasma: 10 L min<sup>-1</sup>, vazão do gás auxiliar: 0,5 L min<sup>-1</sup>, vazão do gás de nebulização: 0,75 L min<sup>-1</sup>, vazão de aspiração da amostra: 35 rpm, câmara de nebulização: ciclônica, nebulizador: V-groove, replicata: três. Os elementos-traço analisados com seus respectivos comprimentos de onda foram os seguintes: B 249,7 nm, Co 228,6 nm, Cu 324,7 nm, Fe 259,9 nm, Mn 257,6 nm,

Ni 231,6 nm, Se 196,026 nm, V 309,3 nm e Zn 213,8 nm. Cada curva de calibração foi preparada com a respectiva matriz (água régia) utilizada no procedimento de extração/digestão. Amostras fortificadas com solução padrão multielementar foram usadas para verificar a precisão analítica (HARRIS, 2007). Os valores para os limites de detecção (LD) foram 0,9; 0,4; 2,0; 3,8; 1,6; 0,5; 3,0; 1,7 e 0,3 para B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn, respectivamente, seguindo as recomendações da IUPAC/1995, onde o cálculo é feito a partir da concentração média do analito mais três vezes o desvio padrão dos valores do branco analítico (CURIE, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

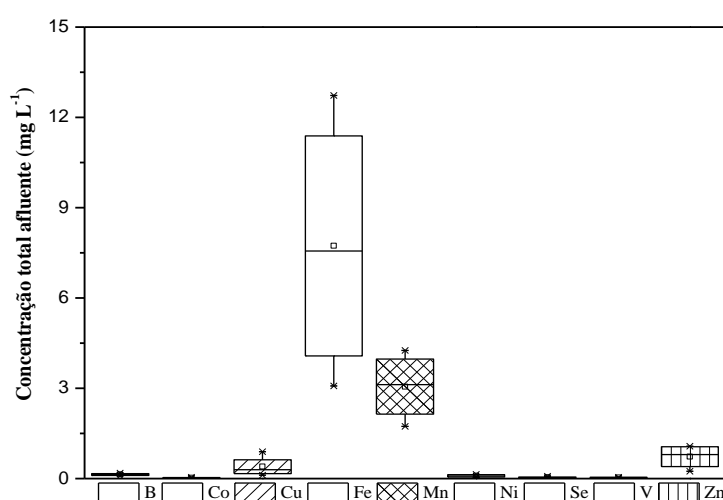
Os elementos-traço B, Co, Ni, Se e V foram encontrados em baixas concentrações e, portanto, suas visualizações em relação aos demais elementos não foi evidenciada (Figura 1). As concentrações afluentes de boro variaram de 0,09 a 0,179 mg L<sup>-1</sup>, com um valor médio de concentração de

0,135 ± 0,036 mg L<sup>-1</sup>. Os valores da concentração afluyente de vanádio variaram de 0,01 a 0,047 mg L<sup>-1</sup>, com uma concentração média de 0,03 ± 0,01 mg L<sup>-1</sup>. As concentrações afluentes de cobalto variaram de 0,016 a 0,047 mg L<sup>-1</sup>, com uma concentração média de 0,029 ± 0,014 mg L<sup>-1</sup>. As concentrações afluentes de selênio variaram de 0,023 a 0,075 mg L<sup>-1</sup>, com uma concentração média de 0,04 ± 0,02 mg L<sup>-1</sup>.

Para cobalto e selênio, os valores de concentração encontrados neste

estudo estiveram dentro das faixas de concentração, relatadas como ótimas (0,0006 - 1,82 mg L<sup>-1</sup> para Co e 0,008 - 0,79 mg L<sup>-1</sup> para Se) por alguns autores durante o tratamento de diferentes tipos de águas residuais (resíduos sólidos orgânicos, silagem de milho, sacarose sintética, silagem de grãos, efluente de destilaria, desperdício de alimentos e metanol) (ZHANG et al., 2003; ZANDVOORT et al., 2006; FERMOSO et al., 2008; PATIDAR; TARE, 2008; UEMURA, 2009; GUSTAVSSON et al., 2013; EVRANOS; DEMIREL, 2015).

**Figura 1.** Gráfico Box-plot da concentração total dos elementos-traço B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn na corrente de entrada do reator metanogênico alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As concentrações afluentes de níquel apresentam valores entre 0,046 e 0,143 mg L<sup>-1</sup>, com um valor médio de 0,09 ± 0,05 mg L<sup>-1</sup>. A faixa de concentração de Ni apresentada neste estudo representam valores mínimos para a faixa ótima de 0,012 a 5 mg L<sup>-1</sup>, relatadas por Takashima e Speece (1990) em estudos sobre os requisitos minerais para a metanogênese. As baixas concentrações afluentes de cobalto e níquel apresentadas neste estudo, apresentaram valores próximos aos valores mínimos relatados na literatura para um desempenho estável e otimizado dos biorreatores (0,0006 - 1,82 mg L<sup>-1</sup> para Co e 0,012 a 5 mg L<sup>-1</sup> para Ni) e podem reduzir a eficiência da digestão anaeróbia, uma vez que tais elementos-traço podem desempenhar um papel crucial no desenvolvimento dos microrganismos, otimizando o processo de digestão e a produção de biogás (ZHANG et al., 2003; GUSTAVSSON et al., 2013).

As baixas concentrações afluentes de cobalto, níquel e selênio apresentadas neste estudo (Figuras 1 e 2), próximas aos valores mínimos relatados na

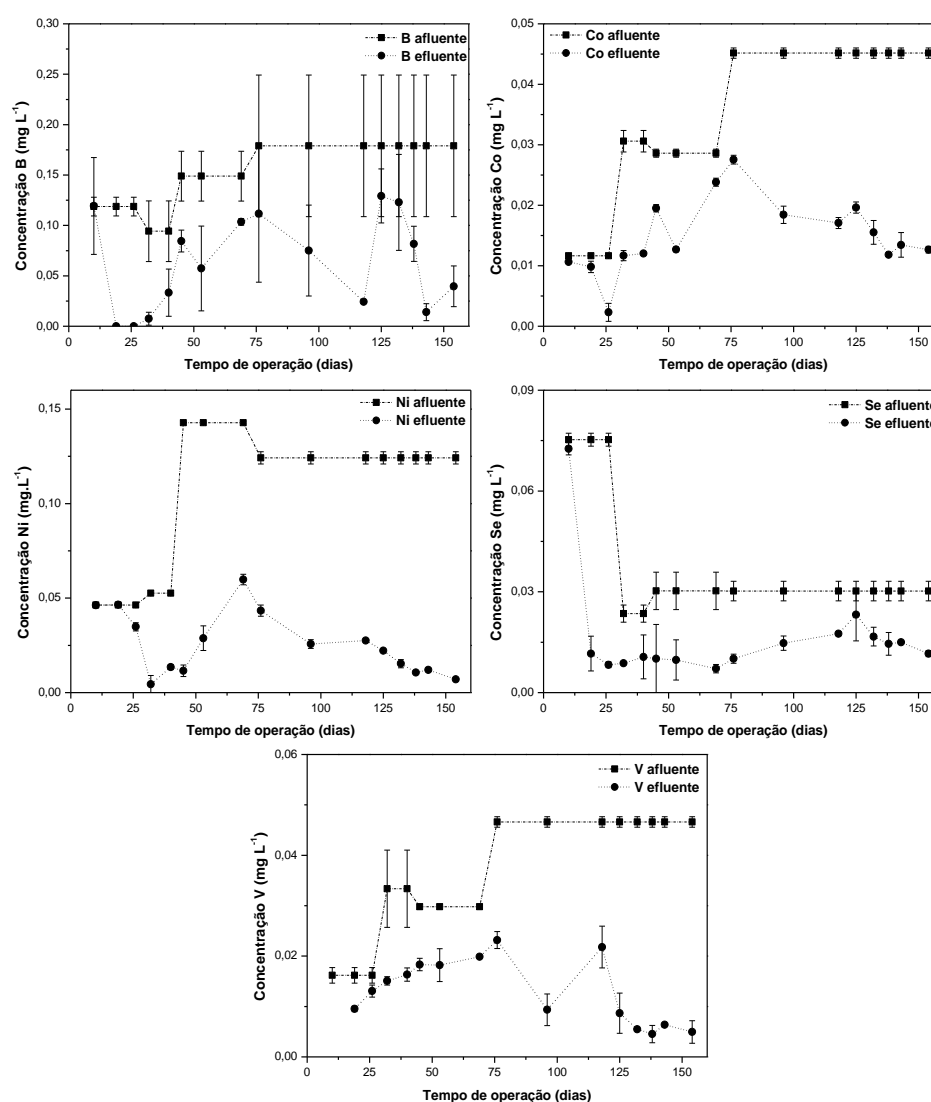
literatura para um desempenho estável e otimizado dos biorreatores, podem reduzir a eficiência da digestão anaeróbia, uma vez que tais elementos-traço podem desempenhar um papel crucial no processo anaeróbico (ZHANG et al., 2003). Limitações de certos elementos-traço (em ordem de relevância aparente: Fe > Zn > Ni > Co e Mo > Cu) foi relatada em muitos digestores anaeróbios, sugerindo que sua suplementação poderia ajudar a melhorar o desempenho da biodigestão (FERMOSO et al., 2008b; LEBUHN et al., 2008; POBEHEIM et al., 2011; BANKS et al., 2012; GUSTAVSSON et al., 2013).

As maiores concentrações encontradas foram para Cu, Fe, Mn e Zn que apresentaram uma ampla faixa de concentração (Figuras 1 e 3). Os valores da concentração afluentes de cobre ficaram entre 0,110 e 0,890 mg L<sup>-1</sup>, com um valor médio de 0,396 ± 0,344 mg L<sup>-1</sup>. As concentrações afluentes de ferro variaram de 3,077 a 12,725 mg L<sup>-1</sup>, com uma concentração média de 7,7 ± 4,4 mg L<sup>-1</sup>. Os valores da concentração afluentes de

mangânês estiveram entre 1,731 e 4,259 mg L<sup>-1</sup>, com uma concentração média de  $3,1 \pm 1,1$  mg L<sup>-1</sup>. As concentrações afluentes de zinco

variaram de 0,243 a 1,071 mg L<sup>-1</sup>, com uma concentração média de  $0,728 \pm 0,403$  mg L<sup>-1</sup>.

Figura 2. Concentrações de B, Co, Ni, Se e V nas correntes de entrada e saída do reator metanogênico alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar.

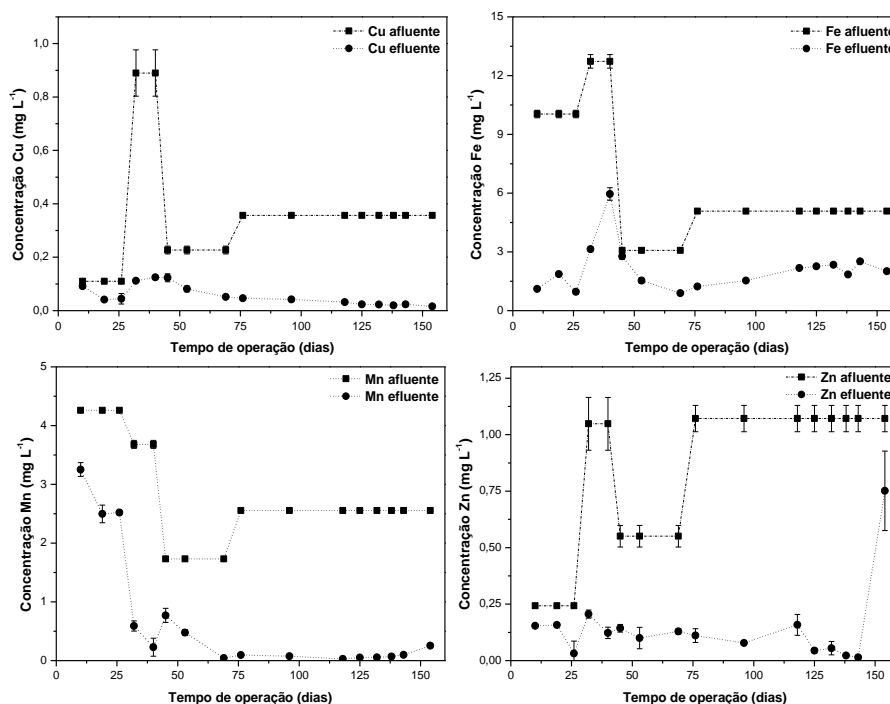


Fonte: Elaborado pelo autor.

A distribuição dos dados relacionados às concentrações afluentes de Cu, Fe, Mn e Zn indica uma grande amplitude dos dados (indicada pela extensa faixa interquartil da Figura 1), sendo o ferro o analito com maior variação entre os dados apresentados. A dispersão dos dados afluentes do reator resulta de diferenças na composição da vinhaça (lotes coletados em diferentes períodos da safra de cana-de-açúcar) utilizados ao longo do tempo de operação do

reator. As concentrações máximas de cobre, ferro e manganês encontradas nessas amostras de vinhaça de cana-de-açúcar foram muito maiores do que os valores de concentração apresentados no melaço de cana-de-açúcar (outro subproduto das plantas de cana-de-açúcar), segundo Yabuki et al. (2019). Portanto, a vinhaça requer mais atenção devido à sua complexidade e o impacto ambiental que conseqüentemente, pode ser maior.

**Figura 3.** Concentrações de Cu, Fe, Mn e Zn nas correntes de entrada e saída do reator metanogênico alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar.

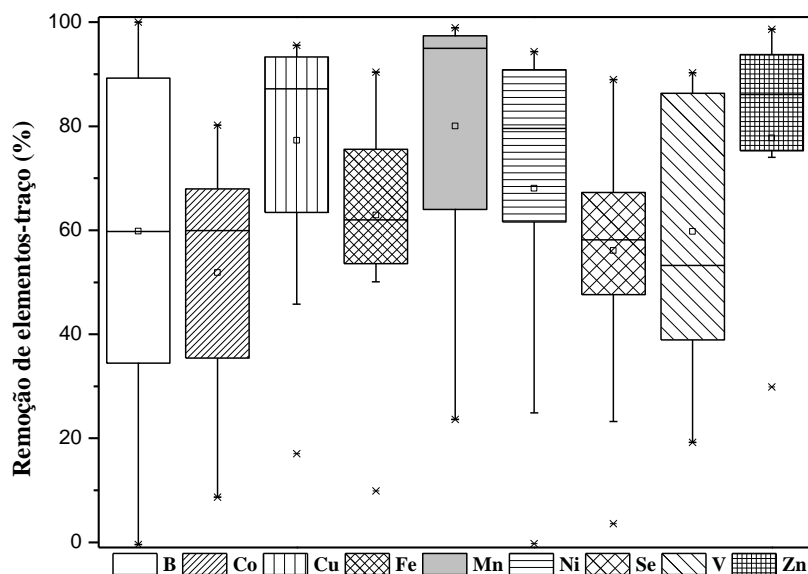


Fonte: Elaborado pelo autor.

A importância do ferro tem sido avaliada por vários autores devido ao seu papel na atividade dos microrganismos metanogênicos, proporcionando uma maior remoção de matéria orgânica e melhores produções de biogás (OLESZKIEWICZ; SHARMA, 1990; LIN et al., 2006; DEMIREL; SCHERER, 2011; GUSTAVSSON et al., 2011; TAKASHIMA et al., 2011; QIANG et al., 2013; SCHMIDT et al., 2014; CHOONG et al., 2016).

Além do Fe conter características que possibilitam a precipitação do sulfeto gerado na digestão anaeróbia (GUSTAVSSON et al., 2013). As concentrações ótimas de Fe para um melhor desempenho e estabilidade de biodigestores tratando águas residuárias agrícolas e industriais foram relatadas por alguns autores, variando de 0,28 a 50,4 mg L<sup>-1</sup> (TAKASHIMA; SPEECE, 1990; KAYHANIAN; RICH, 1995; OECHSNER et al., 2008; JANKE et al., 2016).

**Figura 4.** Gráfico Box-plot da eficiência de remoção dos elementos-traço B, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn no reator metanogênico alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados das eficiências de remoção dos elementos-traço estão representados por meio de um gráfico Box-plot (Figura 4). As eficiências médias de remoção encontradas foram, em ordem decrescente: Mn ( $80 \pm 25\%$ ) > Zn ( $78 \pm 23\%$ ) > Cu ( $77 \pm 22\%$ ) > Ni ( $68 \pm 32\%$ ) > Fe ( $63 \pm 19\%$ ) > V ( $60 \pm 24\%$ ) > B ( $60 \pm 30\%$ ) > Se ( $56 \pm 22\%$ ) > Co ( $52 \pm 22\%$ ). Destaca-se a alta eficiência de remoção de manganês (a partir do 32º dia de operação do reator, com eficiência média de remoção de  $90 \pm 13\%$ ), o que não é comum em processos ambientais, principalmente em soluções com concentrações de Fe acima de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , como alguns autores afirmaram (MOUCHET, 1992; NAIRN; HEDIN, 1993). Os dados da literatura indicam que esse metal é difícil de ser removido devido à sua complexa interação química e a seu alto valor de produto de solubilidade em comparação com outros metais analisados (BEKMEZCI et al., 2011).

As eficiências de remoção dos elementos-traço podem estar relacionadas ao pH, devido ao

aumento na formação de precipitados relacionado ao aumento do pH (BEKMEZCI et al., 2011). Durante o período em que o pH efluente diminuiu (de 8,0 para 5,6, com a redução do agente alcalinizante), a eficiência média de remoção de cobalto, manganês, níquel, selênio e vanádio foi inferior a 60%. Posteriormente, à medida que a carga alcalinizante aumentou, o pH foi mantido em valores mais altos (em torno de 8,0) e foram obtidas eficiências maiores, por exemplo 90% para o manganês. Uma possível explicação para períodos de eficiência de remoção de metais altamente variáveis também pode estar relacionada à precipitação de metais por íons sulfeto ( $S^{2-}$ ), carbonatos ( $CO_3^{2-}$ ) e fosfatos ( $PO_4^{3-}$ ), sua deposição como lodo de reator e ressuspensão e / ou dissolução no tempo de operação subsequente do reator (KAPLAN et al., 1987; KRÖPFELOVÁ et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2007; ÜSTÜN, 2009).

O desempenho do tratamento anaeróbico da vinhaça de cana-de-açúcar, baseado na produção

volumétrica de metano (PVM) e na eficiência de remoção de DQO não foi satisfatório, uma vez que a produção de CH<sub>4</sub> foi severamente comprometida pela temperatura de termofilia extrema. Os melhores resultados de produção de metano e remoção de DQO (333,8 mL de CH<sub>4</sub>. L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e 52%, respectivamente) foram obtidos quando a temperatura do reator foi diminuída de 70 °C para 55 °C (145° dia de operação) coerentes com os dados apresentados por Fuess et al. (2017), utilizando o mesmo substrato e tipo de reator empregado neste estudo porém com maior taxa de carga orgânica (15 kg DQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>), onde foram observados um valor de PVM de 1520 CH<sub>4</sub>. L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e uma eficiência de remoção de DQO de 63%, indicando que a temperatura pode vir a ser um fator limitante para a metanogênese. Embora não seja o foco do atual artigo, a termofilia extrema foi positiva na etapa acidogênica para o reator do presente estudo, atingindo valores de produção volumétrica de hidrogênio (PVH) de 1174 ml H<sub>2</sub> d<sup>-1</sup> L<sup>-1</sup> (NIZ et al., 2019).

A produção de metano a partir da vinhaça acidificada em condição termofílica extrema não representou uma alternativa interessante, pois nessa condição foi observada baixa produção de metano e grande acúmulo de ácidos graxos voláteis (valores médios de 13,2 ± 5,6 g L<sup>-1</sup>), com maior produção de ácido acético alcançando concentrações no efluente de até 15 g L<sup>-1</sup> (rendimento de 0,5 g AcH g DQO<sup>-1</sup>) (NIZ et al., 2019). Portanto, mesmo com a baixa produção de metano, os dados apresentados corroboram com Monshupanee, Nimdach e Incharoensakdi (2016) ao abrir uma nova perspectiva não somente para a geração de bioenergia, mas também para a produção de compostos de interesse comercial como o ácido acético, utilizado na produção de bioplásticos.

## CONCLUSÃO

As concentrações totais de nove elementos-traço foram determinadas nas correntes afluentes e efluentes de um reator anaeróbio termofílico extremo de leito estruturado tratando



a vinhaça da cana-de-açúcar. As concentrações afluentes dos elementos-traço na vinhaça da cana-de-açúcar tiveram alta variabilidade, provavelmente devido ao uso de diferentes lotes de vinhaça coletadas em safras e/ou entressafras diferentes.

As variações nas concentrações de cobre, ferro, manganês e zinco foram mais pronunciadas que as de boro, cobalto, níquel, selênio e vanádio. As eficiências médias de remoção foram  $80 \pm 25$ ,  $78 \pm 23$ ,  $77 \pm 22$ ,  $68 \pm 32$ ,  $63 \pm 19$ ,  $60 \pm 24$ ,  $60 \pm 30$ ,  $56 \pm 22$  e  $52 \pm 22\%$ , respectivamente, para Mn, Zn, Cu, Ni, Fe, V, B, Se e Co, respectivamente.

As maiores eficiências de remoção dos elementos-traço analisados indicaram a capacidade ideal do reator na remoção de micronutrientes e macronutrientes, em destaque especial, a remoção de manganês diante a dificuldade de remoção de manganês relatada pela literatura. Os resultados apresentados perante o monitoramento da concentração dos elementos-traço durante a digestão anaeróbia de vinhaça, demonstram

que o conhecimento sobre sua ocorrência e posterior remoção pode servir como uma importante ferramenta inovadora, de fácil recurso com baixo custo e ecologicamente correta para aplicações biotecnológicas que contribuem para a exploração essencial do reúso da água.

O monitoramento das concentrações dos elementos-traço durante a biodigestão anaeróbia também pode servir como base de dados para estudos posteriores em questões relacionadas a rota dos metais nas demais matrizes ambientais (por exemplo, solos, águas superficiais e subterrâneas) evitando impactos ambientais adversos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processos: 2015/06246-7 e 2016/24526-0) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo: 303469/2017 -0) para este trabalho de pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (WPCF). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington, D.C.: APHA/AWWA/WPCF, 2005.
- AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.
- BANKS, C. J.; ZHANG, Y.; JIANG, Y.; HEAVEN, S. Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 127-135, 2012.
- BEKMEZCI, O. K.; UCAR, D.; KAKSONEN, A. H.; SAHINKAYA, E. Sulfidogenic biotreatment of synthetic acid mine drainage and sulfide oxidation in anaerobic baffled reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 3, p. 670–676, 2011.
- BRASIL. MINISTÉRIO DO INTERIOR. **Portaria nº 323, de 29 de novembro de 1978. [Proíbe o lançamento de vinhoto em coleções de água]**. (Publicada no D.O.U do dia 29/11/1978, seção 1, p. 19456).
- BUSETTI, F.; BADOER, S.; CUOMO, M.; RUBINO, B.; TRAVERSO, P. Occurrence and Removal of Potentially Toxic Metals and Heavy Metals in the Wastewater Treatment Plant of Fusina (Venice, Italy). **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 44, p. 9264-9272, 2005.
- CAMILOTI, P. R.; MOCKAITIS, G.; RODRIGUES, J. A. D.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 89, n. 7, p. 1044–1050, 2013.
- CANÇADO, P. H. D.; FERREIRA, T.; PIRANDA, E. M.; SOARES, C. O. Sugarcane stems as larval habitat for the stable fly (*Stomoxys calcitrans*) in sugarcane plantations. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 741–744, 2013.
- CETESB. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Decisão de Diretoria Nº 045/2015/C: Norma Técnica P4.231: Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**. 3.ed, 2. versão, 15 p., 2015.
- CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4044–4064, 2008.
- CHOONG, Y. Y.; NORLI, I.; ABDULLAH, A. Z.; YHAYA, M. F. Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion

process: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 369–379, 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, Brasília, DF, v. 7, n. 4, p. 1-62, mai. 2021. Safra 2020/21. Quarto levantamento. Disponível em: [https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar/item/download/37136\\_b3e7df44d7d5e801238498af6b39d254](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar/item/download/37136_b3e7df44d7d5e801238498af6b39d254). Acesso em 28 nov. 2021.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 10, p. 1699–1723, 1995.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 3, p. 992–998, 2011.

DIMPE, K. M.; NGILA, J. C.; MABUBA, N.; NOMGONGO, P. N. Evaluation of sample preparation methods for the detection of total metal content using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) in wastewater and sludge. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 76–78, p. 42–48, 2014.

DRIESSEN, W. J. B. M.; TIELBAARD, M. H.; VEREIJKEN, T. L. F. M. Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the UASB process. **Water**

**Science Technology**, v. 30, n. 12, p. 193–201, 1994.

EL-ASSAD, A. B.; VAN-DAL, E. S.; LOPES, M. S. G.; de ANDRADE COUTINHO, P. L.; do CARMO, R. W.; JACONIS, S.B. Technologies, Products and Economic Viability of a Sugarcane Biorefinery in Brazil, In: CAVANI, F.; ALBONETTI, S.; BASILE, F.; GANDINI, A. (Eds.) **Chemical and Fuels from Bio-Based Building Blocks**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2016, p. 569-602.

EVANOS, B.; DEMIREL, B. The impact of Ni, Co and Mo supplementation on methane yield from anaerobic mono-digestion of maize silage. **Environmental Technology**, v. 36, n. 12, p. 1556–1562, 2015.

FACCHIN, V.; CAVINATO C.; FATONE, F.; PAVAN, P.; CECCHI, F.; BOLZONELLA, D. Effect of trace element supplementation on the mesophilic anaerobic digestion of foodwaste in batch trials: The influence of inoculum origin. **Biochemical Engineering Journal**, v. 70, p. 71–77, 2013.

FAVA, M.; RIBAS, F. The benefits of sugarcane chain development in Africa. **Management Review**, v. 15, n. 1, p. 159–166, 2012.

FERMOSO, F. G.; BARTACEK, J.; CHING CHUNG, L.; LENS, P. N. Supplementation of cobalt to UASB reactors by pulse dosing: CoCl<sub>2</sub> versus CoEDTA<sup>2-</sup> pulses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 42, n. 2, p. 111–119, 2008a.

FERMOSO, F. G.; COLLINS, G.; BARTACEK, J.; OFLAHERTY, V.; LENS, P. N. Role of nickel in high rate methanol degradation in anaerobic granular sludge bioreactors. **Biodegradation**, v. 19, p. 725–737, 2008b.

FERMOSO, F. G.; BARTACEK, J.; JANSEN, S.; LENS, P. N. Metal supplementation to UASB bioreactors: from cell-metal interactions to full-scale application. **Science of Total Environment**, v. 407, n. 12, p. 3652–3667, 2009.

FRANKLIN, R. J. Full-scale experiences with anaerobic treatment of industrial wastewater. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 8, p. 1–6, 2001.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal: a critical review on the impacts of fertigation. **Journal of Environmental Management**, v. 145, p. 210–229, 2014.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Bioenergy from stillage anaerobic digestion to enhance the energy balance ratio of ethanol production. **Journal of Environmental Management**, v. 162, p. 102–114, 2015.

FUESS, L. T.; KIYUNA, L. S. M.; FERRAZ JÚNIOR, A. D. N.; PERSINOTI, G. F.; SQUINA, F. M.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. **Applied Energy**, v. 189, p. 480–491, 2017.

GIACHINI, C. F.; FERRAZ, M. V. Benefícios da utilização de vinhaça em

terras de plantio de cana-de-açúcar - revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 3, p. 1-15, 2009.

GLASS, J. B.; ORPHAN, V. Trace Metal Requirements for Microbial Enzymes Involved in the Production and Consumption of Methane and Nitrous Oxide. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. 61, p. 1–20, 2012.

GUSTAVSSON, J.; SVENSSON, B. H.; KARLSSON, A. The feasibility of trace element supplementation for stable operation of wheat stillage-fed biogas tank reactors. **Water Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 320–325, 2011.

GUSTAVSSON, J.; YEKTA, S. S.; SUNDBERG, C.; KARLSSON, A.; EJLERTSSON, J.; SKYLLBERG, U.; SVENSSON, B. H. Bioavailability of cobalt and nickel during anaerobic digestion of sulfur-rich stillage for biogas formation. **Applied Energy**, v. 112, n. SI, p. 473–477, 2013.

HARRIS, D. C. **Quantitative Chemical Analysis**. 7 ed. New York: W.H. Freeman and Company, 2007.

HOBAN, D. J.; VAN DEN BERG, L. Effect of iron on conversion of acetic acid to methane during methanogenic fermentations. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 47, p. 153–159, 1979.

HOLM-NIELSEN, J. P.; SEADI, T.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p. 5478–84, 2009.

- JANKE, L.; LEITE, A. F.; BATISTA, K.; SILVA, W.; NIKOLAUSZ, M.; NELLES, M.; STINNER, W. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 10–20, 2016.
- KAPLAN, D.; ABELIOVICH, A.; BEN-YAAKOW, S. The fate of heavy metal in wastewater stabilization ponds. **Water Research**, v. 21, p. 1189–1194, 1987.
- KAYHANIAN, M.; RICH, D. Pilot-scale high solids thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste with an emphasis on nutrient requirements. **Biomass and Bioenergy**, v. 8, n. 6, p. 433–444, 1995.
- KRÖPFELOVÁ, L.; VYMAZAL, J.; SVEHLA, J.; STÍCHOVÁ, J. Removal of trace elements in three horizontal sub-surface flow constructed wetlands in the Czech Republic. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 1186–1194, 2009.
- KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 1. ed. São Paulo: EditSBQ, 2016.
- LEBUHN, M.; LIU, F.; HEUWINKEL, H.; GRONAUER, A. Biogas production from mono-digestion of maize silage-long term process stability and requirements. **Water Science & Technology**, v. 58, p. 1645–1651, 2008.
- LIN, D.; KAKIZONO, T.; NISHIO, N.; NAGAI, S. Enhanced cytochrome formation and stimulate methanogenesis rate by the increased ferrous concentrations in *Methanosarcina barkeri* culture. **FEMS Microbiology Letters**, v. 68, p. 89–92, 2006.
- LOPES, M. L.; PAULILLO, S. C. L.; GODOY, A.; CHERUBIN, R. A.; LORENZI, M. S.; GIOMETTI, F. H. C.; BERNARDINO, C. D.; AMORIM NETO, H. B.; AMORIM, H. V. Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 64–76, 2016.
- LORA, E. S.; ANDRADE, R. V. Biomass as energy source in Brazil. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 777–788, 2009.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (MAPA). Produção total de etanol deve ficar em 31,6 bilhões de litros em 2019. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/producao-total-de-etanol-deve-ficar-em-31-6-bilhoes-de-litros-em-2019>. Acesso em: 26 nov. 2018.
- MOCKAITIS, G.; PANTOJA, J. L. R.; RODRIGUES, J. A. D.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Continuous anaerobic bioreactor with a fixed-structure bed (ABFSB) for wastewater treatment with low solids and low applied organic loading content. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 7, p. 1361–1368, 2014.
- MONSHUPANEE, T.; NIMDACH, P.; INCHAROENSAKDI, A. Two-stage (photoautotrophy and heterotrophy) cultivation enables efficient production of bioplastic poly-3-hydroxybutyrate in auto-sedimenting cyanobacterium.

**Scientific Reports**, v. 6, n. November, p. 1–9, 2016.

MOUCHET, P. From conventional to biological removal of iron and manganese in France. **Journal of the American Water Works Association**, v. 84, n. 4, p. 158- 167, 1992.

NAIRN, B., HEDIN, R. S. Contaminant removal capabilities of wetlands constructed to treat coal mine drainage. In: MOSHIRI, G. A. (Ed.). **Constructed wetlands for water quality improvement**. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 1993, p. 187–195.

NIZ, M. Y. K. **Produção biológica de hidrogênio e metano a partir de vinhaça de cana-de-açúcar em termofilia extrema**. 2019. Tese (Doutorado em Ciências, Programa de Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

NIZ, M.Y.K.; ETCHELET, I.; FUENTES, L.; ETCHEBEHERE, C.; ZAIAT, M. Extreme thermophilic condition: An alternative for long-term biohydrogen production from sugarcane vinasse. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, p. 22876-22886, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.015>

OECHSNER, H. -W.; LEMMER, A.; RAMHOLD, D.; MATHIES, E.; MAYRHUBER, E.; PREISSLER, D. Method for Producing Biogas in Controlled Concentrations of Trace Elements. **Titular: ISF GmbH. US20100304457A1**. Depósito: 29 mai. 2008. Concessão: 02 dez. 2010.

OLESZKIEWICZ, J. A.; SHARMA, V. K. Stimulation and inhibition of anaerobic processes by heavy metals—A review. **Biological Wastes**, v. 31, n. 1, p. 45–67, 1990.

OLIVEIRA, A. S.; BOCIO, A.; TREVILATO, T. M.; TAKAYANAGUI, A. M.; DOMINGO, J. L.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Heavy metals in untreated/treated urban effluent and sludge from a biological wastewater treatment plant. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 14, n. 7, p. 483–489, 2007.

OSUNA, M. B.; IZA, J.; ZANDVOORT, M. H.; LENS, P. N. Essential metal depletion in an anaerobic reactor. **Water Science & Technology**, v. 48, p. 1–8, 2003.

PATIDAR, S. K.; TARE, V. Soluble microbial products formation and their effect on trace metal availability during anaerobic degradation of sulfate laden organics. **Water Science & Technology**, v. 58, p. 749–755, 2008.

PERNA, V.; CASTELLÓ ANTONAZ, E. V.; WENZEL, J.; LAZARO, C. Z.; LIMA, D. M. F.; BORZACCONI VIDAL, L. M.; VARESCHE, M. B. A.; ZAIAT, M.; ETCHEBEHERE, C. Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 1, p. 54–62, 2013.

POBEHEIM, H.; MUNK, B.; LINDORFER, H.; GUEBITZ, G. M. Impact of nickel and cobalt on biogas production and process stability during semi-continuous anaerobic fermentation of a model substrate for maize silage. **Water Research**, v. 45, p. 781–787, 2011.

PRADO, R. M.; CAIONE, G.; CAMPOS, C. N. S. Filter Cake and Vinasse as Fertilizers Contributing to Conservation Agriculture. **Applied and Environmental Soil Science**, v. 2013, p. 1–8, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/581984>.

QIANG, H.; NIU, Q.; CHI, Y.; LI, Y. Trace metals requirements for continuous thermophilic methane fermentation of high-solid food waste. **Chemical Engineering Journal**, v. 222, p. 330–336, 2013.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION (RFA) 2018. World Fuel Ethanol Production. Disponível em:

<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>. Acesso em: 26 set. 2019.

SCHMIDT, T.; NELLES, M.; SCHOLWIN, F.; PRÖTER, J. Trace element supplementation in the biogas production from wheat stillage - Optimization of metal dosing. **Bioresource Technology**, v. 168, p. 80–85, 2014.

SOTO, M. A.; BASSO, J. B.; KIANG, C. H. Impacto da fertirrigação da cana-de-açúcar por vinhaça nas propriedades físicas, químicas e hidráulicas do solo. In: FONTANETTI, C. S.; BUENO, O. C. (org.). *Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica*. Bauru: Canal 6, 2017. p. 103-124.

SPEECE, R. E. *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Nashville: Archae Press, 1996.

TAKASHIMA, N.; SPEECE, R. E. Mineral requirements for methane fermentation. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 19, p. 465–479, 1990.

TAKASHIMA, M.; SHIMADA, K.; SPEECE, R. E. Minimum requirements for trace metals (iron, nickel, cobalt, and zinc) in thermophilic and mesophilic methane fermentation from glucose. **Water Environment Research**, v. 83, p. 339–346, 2011.

UEMURA, S. Mineral requirements for mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of organic solid waste. **International Journal of Environmental Research**, v. 4, p. 33–40, 2009.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **SW-846 Method 6010: Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods**. Washington, D.C.: USEPA, 2007.

ÜSTÜN, G. E. Occurrence and removal of metals in urban wastewater treatment plants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 2–3, p. 833–838, 2009.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass Bioenergy**, v. 19, p. 63–102, 2000.

WORM, P.; FERMOSE, F. G.; LENS, P. N.; PLUGGE, C. M. Decreased activity of a propionate degrading community in a UASB reactor fed with synthetic medium without molybdenum,

tungsten and selenium. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 139–145, 2009.

YABUKI, L. N. M.; DA SILVA, C. M. R.; OLIVEIRA, C. A.; MENEGÁRIO, A. A.; GARCIA, M. L. Metals in sugarcane molasses wastewater subjected to thermophilic anaerobic digestion. **International Journal of Environmental Studies**, p. 1–14, 2019. <https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1674583>

ZANDVOORT, M. H.; VAN HULLEBUSCH, E. D.; GOLUBNIC, S.; GIETELING, J.; LENS, P. N. Induction of cobalt limitation in methanol-fed UASB reactors. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, n. 9, p. 1486–1495, 2006.

ZHANG, Y.; ZHANG, Z.; SUZUKI, K.; MAEKAWA, T. Uptake and mass balance of trace materials for methane producing bacteria. **Biomass Bioenergy**, v. 25, p. 427–433, 2003.

ZHANG, C. **Fundamentals of Environmental Sampling and Analysis**. New Jersey: Wiley & Sons, 2007.

ZHANG, L.; OUYANG, W.; LI, A. Essential role of trace elements in continuous anaerobic digestion of food waste. **Procedia Environmental Sciences**, v. 16, p. 102–111, 2012.