

EFEITO DE UM BIOSURFACTANTE SOBRE FEZES DE SUÍNOS DILUÍDAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES: ESTUDO PRELIMINAR

Luciano Eduardo Morello Polaquini¹, Chaula Feltrin Cotente²,
Marta Angela Marcondes^{2*}

RESUMO - O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de um biossurfactante, em estudos preliminares, em duas diferentes concentrações de fezes de suínos diluídas. Após o tratamento com biossurfactante, mediu-se a concentração de nitrogênio amoniacal, cloreto, fosfato, oxigênio dissolvido, bem como a presença de cor, odor e turbidez. Também foram quantificados coliformes totais e fecais através da contagem de *Escherichia coli*. Como resultado, é possível inferir que, nas condições do presente estudo, o biossurfactante não apresentou efeito no tratamento de fezes de suínos.

Palavras-chave: biossurfactante, fezes de suínos, qualidade de água

THE EFFECT OF A BIOSURFACTANT ON PIG FECES DILUTED AT DIFFERENT CONCENTRATIONS: PRELIMINARY STUDY

ABSTRACT - This is a preliminary study that aimed to evaluate the effect of a biosurfactant on two different concentrations of diluted swine feces. After treatment with the biosurfactant, the concentration of ammonia, chloride, phosphate, dissolved oxygen were analyzed, as well as color, odor, and turbidity. Fecal coliforms were evaluated by means of *Escherichia coli* counts. It was possible to infer that, under the tested conditions, the biosurfactant had no effect in the treatment of the swine feces.

Keywords: biosurfactants, swine feces, water quality

¹Docente na Universidade Anhembi Morumbi; ²Médica Veterinária Autônoma; ³Universidade Municipal de São Caetano do Sul - USCS, Avenida Goiás, 3.400 - Barcelona, São Caetano do Sul - SP, CEP 09550-051, E-mail: marta.marcondes@uscs.edu.br- *Autor para correspondência;

INTRODUÇÃO

O consumo de carne suína aumentou significativamente no Brasil, sendo a região sul a que concentra a maior parte da criação nacional, com 64,8% de todo abate (IBGE 2010). De acordo com Kunz et al. (2009) e Kunz et al. (2010), a crescente demanda por carne suína trouxe significativo crescimento da produção e, conseqüentemente, significativos problemas ambientais, que se agravam quando leva-se em conta o sistema de criação intensivo, que eleva a quantidade de agentes poluidores.

Se não tratados adequadamente, os dejetos causam proliferação de insetos, odores desagradáveis e maléficos tanto à criação quanto ao tratador (Belli Filho et al. 2001, Kunz et al. 2010). Sendo assim, existem vários métodos empregados para o tratamento dos dejetos, incluindo os processos físico, químico e biológico, que buscam produzir um composto estável (Seganfredo 2007).

Pesquisas recentes têm apresentado o uso de biossurfactantes como uma forma alternativa para tratamento de resíduos orgânicos, como óleos vegetais (Santos; Milioli; Ribeiro 2003), já que os biossurfactantes são produzidos por micro-organismos e trazem baixo impacto ambiental por serem facilmente degradados no meio (Nitschke 2002, Lima 2003).

As fezes de suínos são formadas por diferentes compostos alguns dos quais são passíveis de tratamento com biossurfactante, como lipídeos, alimentos não totalmente digeridos. O surfactante atua de modo a se distribuir nas interfaces entre fases fluídas com diferentes graus de polaridade promovendo emulsificação e viscosidade (água/óleo) resultando em solubilidade de hidrocarbonetos para o meio (Chynoweth et al. 1999, Lima 2003) e isso pode potencializar a ação microbiana na degradação dos compostos hidrofóbicos. Entretanto, o uso de biossurfactante para o tratamento de fezes de suínos ainda não foi avaliado.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi fazer uma avaliação preliminar para determinar a ação de um biossurfactante no tratamento de fezes de suínos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas fezes *in natura* de suínos machos, oriundos do cruzamento das raças Landrace e Large White, com peso aproximado de 50 kg e idade de três meses e meio, que foram alimentados na fase de crescimento com ração que continha milho, farinha de soja e núcleos minerais. As fezes foram coletadas diretamente na criação e armazenadas sob refrigeração, por aproximadamente 24 horas, para posterior análise.

Para analisar o efeito do biossurfactante nas fezes, foi realizado um teste *in vitro*, que se utilizou de: beakers, 1,6 mL de biossurfactante, água destilada e 864 g de fezes de suínos. Foram realizados testes com duas concentrações diferentes de fezes: 20% e 40% e, para cada um desses dois testes, realizados em quadruplicata existiram controles em quadruplicata também. Para o experimento na concentração de 20% de fezes, foram adicionados em cada becker 36 g de fezes e 180 mL de água destilada; e para o experimento na concentração de 40% de fezes, foram adicionados em cada becker 72 g de fezes de suínos e 180 mL de água destilada.

Posteriormente, ambos os testes e seus controles foram homogeneizados, em agitador, por 30 segundos. Em seguida, em cada becker foi adicionado 0,2 mL de biossurfactante e, novamente, estes foram homogeneizados por 30 segundos, e o material sobrenadante foi removido com um coletor. A partir de então, amostras de água resultantes de cada becker foram submetidas à análise de qualidade da água (testes físicos, químicos e microbiológicos).

Os testes físicos realizados foram turbidez, cor e odor; os testes químicos realizados foram concentração: de nitrogênio amoniacal, de fosfato, de cloreto e de oxigênio dissolvido, bem como pH. O teste microbiológico foi a técnica de tubos múltiplos para determinação de coliformes totais e fecais, todos eles segundo metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA 2005).

Os parâmetros nitrogênio amoniacal total, fosfato e cloreto foram analisados quantitativamente, utilizando-se testes colorimétricos (marca Alfakit). Para medir pH, foi usado a medição instantânea por fita (marca J Pro Lab), e para obtenção da temperatura de amostra utilizou-se termômetro de mercúrio (precisão 1°C). Os parâmetros cor, turbidez e odor foram medidos qualitativamente por escalas graduais, estabelecidas de acordo com as amostras disponíveis. Para medir a concentração de oxigênio dissolvido (OD) no sobrenadante, foi utilizado o oxímetro (Quimis, modelo Q408P). A detecção de bactérias do grupo coliforme foi efetuada de soluções em diferentes concentrações da amostra inicial. Inicialmente, 1mL da solução foi diluído em 9 mL de água de diluição; posteriormente, da solução resultante, foi obtido 1 mL e então diluído em 9 mL de água de diluição; e sucessivamente até se ter uma concentração de 10^{-4} mL da solução inicial. A detecção de coliformes fecais e totais foi efetuada pela técnica dos tubos múltiplos, de acordo com a norma Cetesb L5 202. A técnica fornece a quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC), através de cálculos de probabilidade diretamente da Tabela Macgrady (Macêdo 2005). Para cada diluição, foi obtido uma alíquota de 1mL e adicionado em tubo com 10 ml de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubo de Durhan invertido. Esse procedimento foi repetido três vezes para cada solução. Em seguida, os tubos foram colocados em estufa para reação por 24 h a uma temperatura de 36 °C. Após esse período, foi registrada a existência de coliformes fecais pois o tubo de Durhan conteve gás no seu interior, devido à produção de gases do metabolismo microbiano. A ausência de gás é um indicativo de ausência de atividade microbiológica de coliformes. Posteriormente, para efetuar o teste de confirmação de coliformes fecais, de cada solução com caldo LST de cada diluição inicial, efetuou-se a transferência de alçada bem carregada para cultura de tubos com Caldo *E. coli* (EC) com tubo de Durhan invertido. Incubaram-se os tubos em banho-maria a 42°C por 48 horas e se observou o crescimento microbiano com a produção de gás confirmando assim a presença de coliformes fecais. Após esse período, para os tubos positivos (presença de gás), foi tomada uma alíquota de 0,001 mL das culturas de concentração 10^{-3} e 10^{-4} mL do meio EC e estriadas em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Incubaram-se as placas em estufa 36°C por 24 horas. Posteriormente, foi observado o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico) (Silva et al. 2004).

Todos os experimentos microbiológicos foram realizados em câmaras de fluxo laminar. Para evitar potenciais contaminações, utilizou-se autoclave para esterilização dos meios e do material utilizado e os testes microbiológicos foram realizados previamente às demais análises.

Para realização do teste de turbidez, foi adicionada uma solução de concentração 0,01 mL da amostra *in natura* em uma cubeta do kit da análise (cubeta de turbidez). A cubeta é colocada sobre uma marca padrão (um disco com marca escura e clara) e em seguida se realiza uma observação pela parte superior da cubeta para ver o grau de turvação da marca padrão. Esse grau de nitidez é então comparado com outras marcas disponíveis no kit e anota-se aquela que mais se aproxima da marca padrão. Os valores variam de 20 a 100 UNT (Unidade Nefelométrica de Turbidez), com intervalos de 20 UNT. Como as amostras foram diluídas 100 vezes, o resultado, obtidos na escala foi multiplicado por 100. As marcas disponíveis no kit estão em padrões calibrados em unidades de turbidez UNT.

Para a realização do teste de fosfato, foi adicionada 5ml da solução de concentração 0,01 mL da amostra *in natura* em uma cubeta do kit e, em seguida, adicionou-se um 0,0012 g de fosfato. O fosfato foi diluído até sua completa diluição, aguardou-se por 5 minutos para que ocorram reações químicas e desenvolvimento de coloração azul da solução. Posteriormente, comparou-se a cor desenvolvida com padrões da escala colorimétrica de fosfato. Como as amostras foram diluídas 100 vezes, os resultados obtidos na escala foram multiplicados por 100. Para cada padrão de coloração, há uma concentração respectiva de fosfato em mg/L.

Para a realização do teste de nitrogênio amoniacal e amônia, foi adicionada 5mL da solução de concentração 0,01 mL da amostra *in natura* em uma cubeta do kit e, em seguida, adicionou-se 3 gotas (3 mL) do reagente Fenol 0,3%, 3 mL de solução de Nitropruciato de Sódio 7% e 3 mL de Hidróxido de Sódio 3% em Hipoclorito de Sódio, um após o outro e após homogeneização de cada adição. Posteriormente, comparou-se a cor desenvolvida com padrões da escala colorimétrica de nitrogênio amoniacal. Para cada padrão de coloração, há uma concentração respectiva de nitrogênio amoniacal em mg/L.

Para medição do cloreto, transferiu-se a amostra até a marca (10 mL) da cubeta plástica grande, adicionou-se 2 gotas na amostra agitando com movimentos circulares a cada gota adicionando até atingir a cor amarelo tijolo. Como as amostras foram diluídas 100 vezes, os resultados obtidos na escala foram multiplicados por 100. Como cada gota corresponde a 10mg/L de cloreto, foi multiplicada cada gota por 10.

Para medição do pH, utilizou-se fitas de teste de pH, onde foram inseridas as fitas nas amostras e comparadas com escala colorimétrica padronizada do kit de medição.

Para medição da concentração de oxigênio dissolvido, foi empregado o método do oxímetro. Inseriu-se o sensor na amostra e efetuou-se a leitura após estabilização. Para medição da temperatura, inseriu-se o termômetro na amostra e após estabilização por 5 minutos registrou-se o valor resultante.

As amostras foram classificadas quanto à presença ou ausência de cor e odor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises dos parâmetros físicos estão apresentados na Tabela 1. A turbidez variou de 200 a 1000 UNT, com média de 700 UNT. Em relação à cor e ao odor das amostras, não houve variação, com todas as amostras apresentando coloração e odor.

Tabela 1. Resultado dos parâmetros físicos de soluções com diferentes concentrações de fezes de suínos tratadas com biossurfactante e seus respectivos controles

Amostras	Cor	Odor	Turbidez (UNT)
T20%R1	Presente	Presente	400
T20%R2	Presente	Presente	400
T20%R3	Presente	Presente	800
T20%R4	Presente	Presente	200
T40%R1	Presente	Presente	1000
T40%R2	Presente	Presente	1000
T40%R3	Presente	Presente	1000
T40%R4	Presente	Presente	400
C20%R1	Presente	Presente	200
C20%R2	Presente	Presente	400
C20%R3	Presente	Presente	400
C20%R4	Presente	Presente	1000
C40%R1	Presente	Presente	1000
C40%R2	Presente	Presente	1000
C40%R3	Presente	Presente	1000
C40%R4	Presente	Presente	1000

T = amostras submetidas ao tratamento com biossurfactante; C = controle; (amostras sem tratamento); X% = concentração de fezes; RX = réplicas

Os resultados das análises dos parâmetros químicos estão apresentados na Tabela 2. Não houve variação marcante entre as amostras realizadas em paralelo na concentração do nitrogênio amoniacal, o qual apresentou valor de 300 mg/L. O mesmo foi observado para o fosfato que não apresentou variação, com contração de 300 mg/L. O cloreto variou entre 2000 mg/L a 5000 mg/L, com média de 2812 mg/L. O oxigênio dissolvido apresentou variação de 0,2 mg/L a 0,5 mg/L. O pH não teve variação, com todas as medições apresentando valor igual a 6,0.

Tabela 2. Resultado dos parâmetros químicos de soluções com diferentes concentrações de fezes de suínos tratadas com biossurfactante e seus respectivos controles

Amostras	Nitrogênio			Oxigênio	
	Amoniacal (mg/L)	Fosfato (mg/L)	Cloreto (mg/L)	Dissolvido (mg/L)	pH
T20%R1	300	300	3000	0,3	6,00
T20%R2	300	300	3000	0,3	6,00
T20%R3	300	300	2000	0,3	6,00
T20%R4	300	300	3000	0,3	6,00
T40%R1	300	300	3000	0,5	6,00
T40%R2	300	300	5000	0,4	6,00
T40%R3	300	300	3000	0,3	6,00
T40%R4	300	300	2000	0,3	6,00
C20%R1	300	300	3000	0,3	6,00
C20%R2	200	300	2000	0,2	6,00
C20%R3	300	300	2000	0,3	6,00
C20%R4	300	300	3000	0,3	6,00
C40%R1	300	300	4000	0,2	6,00
C40%R2	300	300	3000	0,4	6,00
C40%R3	300	300	2000	0,4	6,00
C40%R4	300	300	2000	0,4	6,00

T = amostras submetidas ao tratamento com biossurfactante; C = controle; (amostras sem tratamento); X% = concentração de fezes; RX = réplicas

Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 3. Os resultados microbiológicos apresentaram em todas as concentrações, tanto para coliformes totais e quanto para coliformes fecais, um número >2400 UFC. Nos resultados das análises microbiológicas em meio Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), houve crescimento excessivo de *E. coli* e, portanto, não foi possível se efetuar a contagem de colônias uma vez que houve saturação do meio.

Tabela 3. Resultado dos parâmetros microbiológicos de soluções com diferentes concentrações de fezes de suínos tratadas com biossurfactante e respectivos controles

Amostras	Concentração	Concentração	Concentração	Unidades Formadoras de Colônias
	0,01mL	0,001MI	0,0001mL	
T20%R1	+	+	+	>2400
T20%R2	+	+	+	>2400
T20%R3	+	+	+	>2400
T20%R4	+	+	+	>2400
T40%R1	+	+	+	>2400
T40%R2	+	+	+	>2400
T40%R3	+	+	+	>2400
T40%R4	+	+	+	>2400
C20%R1	+	+	+	>2400
C20%R2	+	+	+	>2400
C20%R3	+	+	+	>2400
C20%R4	+	+	+	>2400
C40%R1	+	+	+	>2400
C40%R2	+	+	+	>2400
C40%R3	+	+	+	>2400
C40%R4	+	+	+	>2400

T = amostras submetidas ao tratamento com biossurfactante; C = controle; (amostras sem tratamento); X% = concentração de fezes; RX = réplicas

Os parâmetros da resolução CONAMA 357/2005 Classe 3 estão na Tabela 4 os quais serão a seguir confrontados.

De acordo com Libano (2008), a presença de substância dissolvida ou em suspensão altera a cor da água, dependendo da quantidade e da natureza do material presente. No presente estudo, as amostras analisadas apresentaram coloração distinta o que pode ser um indicativo de excesso de matéria orgânica. Isso não está de acordo com a resolução CONAMA, pois as mesmas deveriam apresentar-se incolores (Tabela 4). Segundo Richter et al. (2007), a cor pode ser removida facilmente por processos de coagulação. Em casos de cor extremamente elevada, a remoção pode ser efetuada através do processo de oxidação química, utilizando permanganato de potássio, cloro, ozônio, ou qualquer outro oxidante.

Tabela 4. Resultado dos parâmetros analisados em soluções com diferentes concentrações de fezes de suínos tratadas com biossurfactante e seus respectivos controles comparados com a tabela de água classe 3 do CONAMA 357/2005

Constituintes	Limite recomendado CONAMA 357/2005 Classe 3	Resultado das análises com tratamento de biossurfactante	Resultado das análises de controle
Cor	Ausente	Presente	Presente
Odor	Ausente	Presente	Presente
Turbidez	Até 100 UNT	200-1000 UNT	200-1000 UNT
Nitrogênio Amoniacal	13,3 mg/L, para pH <7,5	300mg/L em pH 6,0	300mg/L em pH 6,0
Fosfato	0,15 mg/L	300 mg/L	300 mg/L
Cloreto	250 mg/L	2000-5000 mg/L	2000-5000 mg/L
Oxigênio Dissolvido	Não inferior a 4mg/L O ₂	<0,5 mg/L O ₂	<0,5 mg/L O ₂
pH	6,0-9,0	6,0	6,0
Coliformes Fecais	2500 UFC/mL	>2400 UFC/mL	>2400 UFC/mL

O odor fétido que as amostras apresentaram provavelmente deve estar associado, tanto à presença de substâncias químicas como a emissão de gases fruto da decomposição microbiana (Libano 2008). As análises realizadas nas amostras evidenciaram odor presente, fato que também não corrobora com a resolução CONAMA supracitada a qual estabelece que o odor seja ausente (Tabela 4).

Turbidez é a medida da quantidade de materiais em suspensão no líquido, atuando na transparência do meio (Telles et al. 2007). Nas amostras analisadas, a presença de partículas provocou a dispersão e a absorção da luz, dando à água uma aparência nebulosa. De acordo com Richter et al. (2007), essa turbidez evidencia matéria orgânica em suspensão e possivelmente de micro-organismos associados. No caso de ambas amostras o valor de turbidez variou de 200 à 1000 UNT e o limite recomendado pelo CONAMA é de 100 UNT (Tabela 4), estando portanto em desacordo com a citada resolução.

O nitrogênio amoniacal é a forma reduzida do nitrogênio, mostrando-se na análise realizada a hidrólise da uréia (Aita et al. 2007). Como uma das formas de reuso dos dejetos dos suínos é a aplicação em solo, o solo pode sofrer eutrofização juntamente com o fósforo e outros nutrientes, provocando o enriquecimento do meio. A lixiviação dos dejetos poderá provocar poluição nos corpos d'água. Para os parâmetros analisados, o nitrogênio amoniacal está acima do valor que estabelece o CONAMA 357/2005.

Outra análise importante é a avaliação o teor de fosfato, que se origina da dissolução de compostos do solo e decomposição da matéria orgânica, como lixiviação de criatórios de animais, principalmente na suinocultura (Telles et al. 2007, Libano 2008). A eutrofização é um processo que ocorre quando há uma excessiva quantidade de nutrientes num corpo d água, sendo os principais o fosfato e nitrogênio. Ela resulta num aumento significativo de produção de biomassa de algas bem como o aumento do fitoplâncton. Tais aumentos excessivos da biomassa dos produtores primários denominam-se floração. As florações podem favorecer o desenvolvimento de algas tóxicas as quais

podem contaminar a água bem como o pescado, o que é preocupante em relação à saúde pública. Muitas dessas algas produzem toxinas que podem causar doenças, sendo os principais acometimentos da pele, fígado e sistema nervoso. Além disso, as florações diminuem a quantidade de oxigênio dissolvido, resultando em morte dos organismos aquáticos, alterando sua turbidez, cor e odor. De acordo com Teixeira (2004), os suínos recebem fósforo em sua dieta e excreta grande quantidade deste elemento na urina e fezes, o que acarreta risco de poluição ambiental quando não tratada de maneira correta. O presente estudo encontrou concentrações elevadas de fosfatos nas amostras analisadas (300 mg/L) (Tabela 4), acima do estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005.

Outra análise realizada foi a determinação de cloreto. Segundo Mirlean et al. (2005), o excesso de cloreto em corpos d'água é indicativo de que está havendo entrada de excesso de nutrientes que podem ser oriundos de dejetos de animais, esgoto doméstico ou infiltração de agrotóxicos que contaminam lençóis freáticos. Em todas as amostras analisadas, a concentração de cloreto ultrapassou 10 vezes o recomendado pela resolução CONAMA 357/2005 (Tabela 4).

A análise de oxigênio dissolvido também é de grande importância na análise de parâmetros da água. A água que apresenta excesso de matéria orgânica favorece o crescimento microbiano aeróbio que consumirá o oxigênio dissolvido, diminuindo a vida aeróbia no corpo d'água sendo eles os peixes e algas, o que determina perda de biodiversidade (Telles et al. 2007, Quege; Siqueira 2005). No presente trabalho, o oxigênio dissolvido resultou num valor de < 0,5 mg/L O₂ inferior ao limite recomendado pelo CONAMA 357/2005 (Tabela 4).

O pH expressa a concentração de íons de hidrogênio na solução, sendo indicador do seu grau de acidez ou alcalinidade. Apresenta uma escala que varia de 0 a 14, que denotam vários graus de acidez e alcalinidade (Telles et al. 2007). Na análise do pH das presentes amostras, o pH foi 6,0 o que manteve o índice dentro do permitido pelo CONAMA 357/2005 (Tabela 4).

As análises para determinar a densidade de bactérias do grupo coliformes são importantes, uma vez que estas bactérias indicam contaminação de origem fecal e, por consequência, a possibilidade da presença de patógenos, indicando as condições sanitárias de determinado corpo d'água. A presença destas bactérias nas amostras foi confirmada através da Técnica de tubos Múltiplos, e a presença de coliformes totais e fecais foi positiva para todas as amostras, apresentando >2400 UFC/mL. O limite aceitável pelo CONAMA 357/2005 é de 2500 coliformes por 1 ml, podendo estar dentro do limite ou ultrapassando o mesmo.

Na determinação de colônias de *E. coli*, houve um crescimento excessivo no meio, impossibilitando a contagem. Essa bactéria é indicador de contaminação fecal do trato intestinal e são eliminadas com as fezes. O CONAMA 357/2005 estabelece que os coliformes fecais devem apresentar o mesmo limite que o da *E. coli*. A impossibilidade de se realizar a contagem é um indicativo de um número excessivo de bactérias muito acima do estabelecido pela resolução CONAMA e, portanto em desacordo com a lei.

No presente estudo concluiu-se que o biossurfactante utilizado, nas concentrações de 20% e 40% de fezes de suínos diluídas oriundas de criação em sistema intensivo, não teve efeito de

tratamento nas fezes de suínos e essas não seriam apropriadas para serem descartadas no ambiente, de acordo com a legislação federal vigente. Assim, sugere-se que as fezes diluídas de suínos devam passar outros tipos de tratamento mais eficazes, como por exemplo o biodigestor, antes de serem descartadas no ambiente.

REFERÊNCIAS

APHA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Associations, 21st ed., 2005.

Aita C, Giacomini SJ, Hubner AP. Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em solo sob sistema de plantio direto. *Pesq Agropec Bras*. 2007;42(1):95-102.

Barros FFC, Quadros CP, Maróstica Júnior MR, Pastore GM. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. *Quím Nova*. 2007;30(2):404-14.

Belli Filho P, Castilhos Júnior AB, Costa RHR, Soares SR, Perdomo CC. Tecnologias para o tratamento de dejetos de suínos. *Rev Bras Eng Agríc Ambient*. 2001;5(1):166-170.

Brasil. Ministério de Ciência e Tecnologia. Primeiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa: relatório de referências - Emissões de metano da pecuária. [Internet]. 2002 [acesso em 2014 ago 24]. Disponível em: http://homologa.ambiente.sp.gov.br/proclima/publicacoes/relatorios_referencias/setor_agropecuaria/6.pdf

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. Norma L5.202. Coliformes totais e fecais – determinação pela Técnica de Tubos Múltiplos. [Internet]. Jan 1993 [acesso em 2012 maio 11]. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/servicos/normas/L5.202_Coliformestotaisfecaisdetermina pelaA9cnicadetubosmultiplosmA9todode20ensaio.pdf

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº. 357 de 17 de março de 2005. Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. 2005 mar 18; Seção 1. p.58-63.

Chynoweth DP, Wilkie A C, Owens, JM. Anaerobic treatment piggery slurry. *Asian-Aus J Anim Sci*. 1999;12(4):607-28.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE: Estatística da Produção Agrícola – Primeiro Trimestre de 2010. [Internet]. Jan 1993 [acesso em 2012 abril 28]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201001comentarios.pdf

Kunz A, Miele M, Steinmetz RLR. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. *Biores Tech*. 2009;100(22):5485-89.

Kunz A, Ricardo L, Steinmetz R, Bortoli M. Separação sólido-líquido em efluentes da suinocultura. *Rev Bras Eng Agríc Ambient*. 2010;14(11):1220-25.

- Libano M. Qualidade da água. In: _____. Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água. 2. ed. São Paulo: Editora Átomo, 2008, p. 20-30.
- Lima TMS. Produção de biossurfactante visando ao tratamento da borra oleosa. [Dissertação] Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2003.
- Macedo JAB. In: _____. Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas. 3. ed. Minas Gerais: Abes, 2005, p.183-84.
- Mirlean N, Machado MI, Osinaldi GM, Demoliner A, Baisch P. O impacto na composição química das águas subterrâneas com enfoque de consumo humano (Rio Grande, RS). Quím Nova. 2005;28(5):788-91.
- Nitschke M, Pastore GM. Biossurfactante: propriedades e aplicações. Quím Nova. 2002;25(5):772-76.
- Quege KE, Siqueira EQ. Avaliação da qualidade da água no córrego Botafogo na Cidade de Goiânia-GO. In: XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005, Campo Grande. Anais... Campo Grande: ABES, 2005. [acesso em 2011 maio 05]. Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/bvsad/abes23/l-174.pdf>
- Richter CA, Azevedo Netto JM. A Qualidade da Água. In: _____. Tratamento de água: tecnologia atualizada. 1. ed. São Paulo: Edgar Blucher, 2007, p.25-26.
- Santos LC, Millioli VS, Ribeiro, VM. Avaliação da potencialidade do uso de biossurfactante na biorremediação do solo contaminado por óleo cru. IN: XI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2003, Ouro Preto. Anais... Ouro Preto: CETEM, 2003. [acesso em 2012 ago 15]. Disponível em: <http://www.cetem.gov.br/publicacao/CTs/CT2003-009-00.pdf>
- Seganfredo MA. Uso de dejetos suínos como fertilizantes e seus riscos ambientais. In: _____. Gestão ambiental na suinocultura. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. p.149-75.
- Silva N, Cantúcio Neto R, Junqueira VCA, Silveira NFA. Determinação de Coliformes Totais, Coliformes Fecais e *Escherichia coli*. In: _____. Manual de Métodos de Análise Microbiológica da Água. 1. ed. Campinas: ITAL/ Núcleo de Microbiologia, 2004, p.18-21.
- Teixeira AO, Lopes DC, Lopes JB, Vitti DMSS, Gomes PC, Hostagno HS, Moreira JA, Inácio F. Determinação da biodisponibilidade do fósforo de diferentes fontes pela técnica de diluição isotópica, em suínos em crescimento. Rev Bras Zootec. 2004;33(5):1231-37.
- Telles DDA, Costa RHPG. Qualidade da água. In: _____. Reúso da água: conceitos, teorias e práticas, 1.ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2007, p.31-33.