



**Universidade de  
Aveiro  
Ano 2010**

Departamento de Ambiente e Ordenamento

**Fernando Azevedo**

**Optimização da fase acidogénica termofílica para  
produção de biopolímeros**



**Fernando Azevedo**

**Optimização da fermentação acidogénica para  
produção de biopolímeros**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais, Professora Auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Prof. Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela**  
Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

**Prof. Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais**  
Professora Auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutor Cheng Chia-Yau**  
Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

## **agradecimentos**

Quero aqui expressar os meus sinceros agradecimentos a todos que directa ou indirectamente, colaboraram para a concretização deste trabalho.

Agradeço à Professora Doutora Helena Nadais pela exigência, orientação, incentivo, e conhecimentos transmitidos durante a elaboração desta tese.

A todos os colegas que me acompanharam no laboratório do DAO, à Marta, à Cristina, ao Flávio Silva agradeço a camaradagem, os conhecimentos partilhados e a boa disposição.

Um agradecimento muito especial à Carla pela compreensão durante este longo período de tese.

Por último e não menos especial, um grande obrigado aos meus pais e irmã por toda o incentivo e apoio ao longo deste período.

**palavras-chave**

Acidificação anaeróbia; ácidos orgânicos voláteis (AOVs), digestão anaeróbia; biopolímeros; polihidroxialcanoatos (PHAs); ácidos gordos de cadeia longa (AGCL).

**resumo**

A fundamentação deste trabalho está associada à dependência actual de combustíveis fósseis para a produção de plásticos, e às crescentes preocupações ambientais inerentes à sua deposição no meio natural, pois são de difícil degradação, resultando na investigação e desenvolvimento de biopolímeros, que são de fácil biodegradação. Com este trabalho impõem-se também a questão da problemática ambiental da deposição de matéria orgânica em aterro, que actualmente é restringida pela Directiva Aterros.

O objectivo deste trabalho foi a valorização de um efluente de lamas gordas de uma indústria de lacticínios, nomeadamente na optimização da fermentação acidogénica, variando as condições de carga orgânica, temperatura, alcalinidade e pH. Possibilitando que este tipo de efluentes, que constituem fontes de poluição, seja aproveitado como matéria-prima, especialmente na produção de biopolímeros, nomeadamente os polihidroxialcanoatos (PHAs). Um outro objectivo deste trabalho foi verificar outra forma de valorização deste resíduo, nomeadamente na produção de metano (CH<sub>4</sub>).

Neste sentido, foram montados quatro reactores acidogénicos descontínuos, sendo dois deles alcalinos (R1 e R1') e outros dois não alcalinos (R2 e R2') sem controlo de pH. Ambos os reactores foram submetidos a uma matriz experimental de cargas orgânicas de 10 gCQO/L e 30 gCQO/L, numa temperatura termofílica (55 ±1°C). Outros quatro reactores foram também operados com as mesmas condições à mesma temperatura, sendo submetidos às mesmas duas cargas orgânicas (10 gCQO/L e 30 gCQO/L), mas com correcção de pH entre 4 e 5. Foram ainda usados os resultados dos reactores operados à temperatura mesofílica (37 ±1°C), da autoria de Isidoro. C., 2009, de forma a se comparar o efeito da temperatura.

A carga orgânica, temperatura, alcalinidade e pH são condições operacionais que se reflectem na produção de ácidos orgânicos voláteis (AOVs). A alcalinidade e carga orgânicas elevadas favoreceram a produção de AOVs em ambas as cargas. Pelo contrário, o controlo pH entre 4 e 5, não favoreceu a produção de AOVs. Para a temperatura mesofílica (37 ±1°C) e com adição de alcalinidade verifica-se a produção máxima de AOVs a 30 gCQO/L, apresentando uma concentração total de AOVs de 5356 mgAAc/L ao 17º dia. Pelo contrário, para a temperatura termofílica (55 ±1°C) a 30 gCQO/L e com adição de alcalinidade, a produção de AOVs foi inibida ao longo do ensaio, apresentando uma concentração máxima de 1426 mgAAc/L.

**keywords**

Anaerobic Acidification; volatile organic acids (AOVs), anaerobic digestion; biopolymers; polyhydroxyalkanoates (PHAs); long chain fatty acids (AGCL).

**abstract**

The reason of this work is associated with the current dependency on fossil fuels for the production of plastics, and increasing environmental concerns inherent in his deposition in the wild because they are difficult to degrade, resulting in research and development of biopolymers, which are easy to biodegradation. With this work is also the issue of environmental problem of the deposition of organic matter in landfill, which currently is constrained by the landfill directive.

The aim of this work was the promotion of a fat sludge effluent of a dairy industry, namely in the optimization of acidogenic fermentation, changing the organic load conditions, temperature, pH and alkalinity. Enabling this type of effluent, which constitute sources of pollution to be leveraged as raw material, especially in the production of biopolymers, namely polyhydroxyalkanoates (PHAs). Another objective of this work was to check otherwise recovery of waste, in particular in the production of methane (CH<sub>4</sub>). In this sense, were mounted four discontinuous acidogenic reactors, being two of them alkali (R1 and R1 ') and two other alkali not (R2 and R2 ') without control pH. Both reactors have been subjected to an experimental array of organic loads of 10 gCQO/L and 30 gCQO/L at a termophilic operating temperature (55 ± 1 ° C). Other four reactors were also operated with the same conditions at the same temperature, being subject to the same two organic loads (10 gCQO/L and 30 gCQO/L), but with correction of pH to between 4 and 5. Were still used the results of reactors operated under mesophilic temperature (37 ± 1°C), authorship by Isidoro. C., 2009, to compare the effect of temperature.

The organic load, temperature, alkalinity and pH are operating conditions which influence the production of volatile organic acids (AOVs). The alkalinity and high organic loads favored AOVs production on both charges. On the contrary, control pH to between 4 and 5, not favored AOVs production. For the mesophilic operating temperature (37 ± 1 ° C) and addition of alkalinity there is a maximum of 30 AOVs gCQO/L, showing a concentration of total 5356 AOVs mgAAc/l at 17<sup>th</sup> day. Contrary, for the termophilic operating temperature (55 ± 1 ° C) at 30 gCQO/L and addition of alkalinity, inhibited the AOVs production throughout the test, showing a maximum concentration of 1426 mgAAc/l.

# Índice

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>xi</b>
<b>1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Motivação e identificação do problema.....</i>	1
<b>2. BIOPOLÍMEROS.....</b>	<b>7</b>
2.1 <i>Substitutos dos polímeros .....</i>	7
2.2 <i>Classificação dos biopolímeros .....</i>	8
2.3 <i>Polihidroxialcanoatos (PHAs) .....</i>	9
2.4 <i>Aplicações dos PHAs .....</i>	12
<b>3. A INDÚSTRIA DE LACTICÍNIOS.....</b>	<b>15</b>
3.1 <i>Caracterização do sector.....</i>	15
3.2 <i>Constituintes do leite e derivados.....</i>	18
3.3 <i>Características dos efluentes de lacticínios.....</i>	20
<b>4. DIGESTÃO ANAERÓBIA .....</b>	<b>29</b>
4.1 <i>Evolução histórica .....</i>	29
4.2 <i>Digestão anaeróbia de efluentes de lacticínios .....</i>	33
4.3 <i>Microbiologia e bioquímica: etapas do processo .....</i>	35
4.4 <i>Factores ambientais que interferem com o processo .....</i>	43
4.4.1 <i>PH e alcalinidade.....</i>	43
4.4.2 <i>Temperatura .....</i>	45
4.4.3 <i>TRH.....</i>	47
4.4.4 <i>Agitação.....</i>	48
4.4.5 <i>Nutrientes (Razão Carbono/Azoto).....</i>	49
4.4.6 <i>Toxicidade e inibição.....</i>	50
4.5 <i>A acidificação anaeróbia como pré-tratamento na produção de biopolímeros (polihidroxialcanoatos).....</i>	51

<b>5. OBJECTIVOS DO TRABALHO .....</b>	<b>53</b>
<b>6. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>57</b>
6.1 <i>Equipamento .....</i>	59
6.2 <i>Condições operacionais e de monitorização .....</i>	60
6.3 <i>Metodologia Analítica .....</i>	64
6.3.1 <i>Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs) .....</i>	64
6.3.2 <i>Sólidos .....</i>	66
6.3.3 <i>PH .....</i>	68
6.3.4 <i>Alcalinidade .....</i>	68
6.3.5 <i>Composição do biogás .....</i>	68
6.3.6 <i>Carência Química de Oxigénio (CQO) .....</i>	71
<b>7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
7.1 <i>Resultados experimentais .....</i>	73
7.1.1 <i>1º Ensaio .....</i>	75
7.1.2 <i>2º Ensaio .....</i>	82
7.1.3 <i>3º Ensaio .....</i>	92
<b>8. DISCUSSÃO DE RESULTADOS .....</b>	<b>105</b>
<b>9. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>123</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>127</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>144</b>
<i>ANEXO I - Balanço mássico da CQO .....</i>	144
<i>ANEXO II - Factores de conversão da CQO inicial a CQO AOVs .....</i>	145



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AAc</b>	- Ácido acético	
<b>AGCL</b>	- Ácidos gordos de cadeia longa	
<b>Apr</b>	- Ácido propiónico	
<b>AOVs</b>	- Ácidos orgânico voláteis	[ML <sup>-3</sup> T <sup>-1</sup> ]
<b>CBO</b>	- Carência bioquímica de oxigénio	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>CQO</b>	- Carência química de oxigénio	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>CQOAOVs</b>	- Carência química de oxigénio equivalente aos AOVs	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>DA</b>	- Digestão anaeróbia	
<b>DAF</b>	- Flutuação por ar dissolvido	
<b>GC</b>	- Cromatografia gasosa	
<b>HB</b>	- Monómero hidroxibutirato	
<b>HV</b>	- Monómero hidroxivalerato	
<b>INAG</b>	- Instituto Nacional da Água	
<b>INE</b>	- Instituto Nacional Estatística	
<b>INETI</b>	- Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação	
<b>Ld</b>	- Limite de deteção	
<b>OG</b>	- Óleos e gorduras	
<b>PE</b>	- Polietileno	
<b>PP</b>	- Polipropileno	
<b>PS</b>	- Poliestireno	
<b>PHAS(s)</b>	- Polihidroxialcanoato(s)	
<b>PHB</b>	- Polímero de hidroxibutirato	
<b>P(HB-HV)</b>	- Copolímero poli(β-hidroxibutirato-co-valerato)	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>ST</b>	- Sólidos totais	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>SST</b>	- Sólidos em suspensão totais	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>SSV</b>	- Sólidos em suspensão voláteis	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>TRH</b>	- Tempo de retenção hidráulico	[T]
<b>X</b>	- Concentração de biomassa	[M.L <sup>-3</sup> ]
<b>Q</b>	- Caudal volúmico	[L <sup>3</sup> .T <sup>-1</sup> ]
<b>V</b>	- Volume	[L <sup>3</sup> ]
<b>Sol. ñ acid.</b>	- Solúvel não acidificado	
<b>et al.</b>	- E outros (do latim : et alia)	
<b>ΔG<sup>o</sup></b>	- Energia livre padrão de Gibbs (KJ/mol)	
<b>Ø</b>	- Diâmetro	[L]



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – classificação dos biopolímeros segundo a sua origem (adaptado de averous, 2002). ....	8
Figura 2 – formula química geral dos phass (lee, 1996). .....	11
Figura 3 – estrutura do copolímero poli(3-hidroxibutirato) e copolímero poli(3-hidroxivalerato). ....	12
Figura 4 – aplicações dos phas: a – válvula cardíacas, b – reconstrução óssea, c – suturas cirúrgicas (fonte: <a href="http://www.tephas.com">http://www.tephas.com</a> ), d – frascos de champô da wella em biopol®, e – máquinas de barbear descartáveis, f – cartão de crédito em biopol® ( <a href="http://www.greenpeace.org">http://www.greenpeace.org</a> ), g – capacete de bicicleta (brandl et al. 1995), h – utensílios descartáveis em nodax®, i – papel fotográfico feito de nodax® ( <a href="http://www.nodax.com">http://www.nodax.com</a> ) .....	14
Figura 5 – distribuição do leite produzido em portugal por produtos (fonte: ine 2006). ....	15
Figura 6 – distribuição regional de explorações e do efectivo leiteiro em portugal continental (fonte: ine 2006). .....	17
Figura 7 – distribuição das empresas do sector da indústria de lacticínios (cae 15510 e 15520) existentes em portugal continental, segundo a classificação nuts ii. (fonte: ministerio do trabalho e da solidariedade, 1997) .....	17
Figura 8 – sistemas de tratamento biológico a) em uma e b) em duas fases (fonte: nadais h., 2002). ....	27
Figura 9 – balanços mássicos para processos aeróbios e anaeróbios (adaptado de alves, m.m., 2003) .....	31
Figura 10 – esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de gujer e zehnder, 1983). Os valores expressos em %, indicam fluxo de substrato na forma de cgo equivalente em metano. ....	37
Figura 11 – produtos do metabolismo fermentativo mediante a pressao parcial de h <sub>2</sub> .....	40
Figura 12 – sistema típico de separação de óleos e gorduras por injeção de ar pressurizado (diffuse air flottator - daf). .....	53
Figura 13 – processo típico de produção de phas por culturas mistas (mais do que uma estirpe bacteriana), usando quer uma cultura seleccionada com o fermentado de <i>lomas daf</i> (linha a cheio) quer uma cultura seleccionada com acetato (linha a tracejado) (adaptado de a.m. Reis et. Al., 2007) .....	55
Figura 14 – esquema da instalação experimental. ....	59
Figura 15 – cromatograma obtido na análise de ácidos voláteis. 1 - ácido acético; 2 - ácido propiónico; 3 - ácido isobutírico; 4 - ácido nbutírico; 5 - ácido isovalérico; 6 - ácido n-valérico; 7 - ácido n-capróico .....	65
Figura 16 – aparelhos típicos utilizados na quantificação de sólidos, a) estufa, b) mufla .....	67

Figura 17 - cromatograma obtido na análise da composição de biogás. 1 - outros componentes gasosos; 2 - ch <sub>4</sub> ; 3 - co <sub>2</sub> .	69
Figura 18 – rectas de calibração para posterior determinação da percentagem (%) de cada composto.	70
Figura 19 - desvios padrões das médias de cada amostra composta e da média total à concentração dos ssv.	76
Figura 20 - produção cumulativa de metano para os reactores r1 (com alcalinidade) e reactor r2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10 gcqo/l e t=55 ±1°C.	77
Figura 21 - produção acumulativa de metano para os reactores r1 (com alcalinidade) e r2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gcqo/l e t=°37°C (fonte: isidoro, c., 2009).	78
Figura 22 - concentração de aovs no reactor r1 (com alcalinidade) para uma carga de 10gcqo/l e t=55 ±1°C.	79
Figura 23 - concentração de aovs no reactor (r1) - com alcalinidade, para uma carga de 10gcqo/l e t=°37°C (fonte: isidoro, c., 2009).	79
Figura 24 - concentração de aovs no reactor r2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gcqo/l e t=55 ±1°C.	80
Figura 25 - concentração de aovs no reactor (r2) - sem alcalinidade, para uma carga de 10gcqo/l e t=°37°C (fonte: isidoro, c., 2009).	81
Figura 26 - produção acumulada de metano para os reactores r1' (com alcalinidade) e r2' (sem alcalinidade) para uma carga de 30gcqo/l e t=°55 ±1°C.	83
Figura 27 - produção acumulada de metano para os reactores r1' (com alcalinidade) e r2' (sem alcalinidade) para uma carga de 30gcqo/l e t=37 ±1°C (fonte: isidoro, c., 2009).	84
Figura 28 - concentração de aovs no reactor r1' (com alcalinidade) para uma carga de 30gcqo/l e t=55 ±1°C.	85
Figura 29 - concentração de aovs no reactor (r1') - com alcalinidade, para uma carga de 30gcqo/l e t=°37°C (fonte: isidoro, c., 2009).	86
Figura 30 - concentração de aovs no reactor (r1'') - (com alcalinidade), para uma carga de 30gcqo/l e t=°55°C (fonte: isidoro, c., 2009).	86
Figura 31 - concentração de aovs no reactor r2' (sem alcalinidade) para uma carga de 30gcqo/l e t=55 ±1°C.	87
Figura 32 - concentração de aovs no reactor (r2') - sem alcalinidade para uma carga de 30gcqo/l e t=°37°C (fonte: isidoro, c., 2009).	88
Figura 33 - concentração de aovs no reactor (r2'') - sem alcalinidade, para uma carga de 30gcqo/l e t=°55°C (fonte: isidoro, c., 2009).	89
Figura 34 - desvio padrão da média de cada amostra composta à concentração dos ssv.	93
Figura 35 – perfis de ph para os reactores r3', r3, r4, e r5 à t=55 ±1°C.	95
Figura 36 - produção acumulada de metano para os reactores r3' (30gcqo/l, com alcalinidade, ph=4) e r3 (10 g cqo/l, sem alcalinidade, ph=5), r4 (10 g cqo/l, com alcalinidade, ph=4), r5 (10 g cqo/l, sem alcalinidade, ph=4) e t=55 ±1°C.	96

Figura 37 - concentração de aovs no reactor r3' (com alcalinidade e ph=4) para uma carga de 30gcqo/l e t=55 ±1°C. ....	98
Figura 38 – concentração de aovs no reactor r3 (sem alcalinidade e ph=5) para uma carga de 10gcqo/l e t=55 ±1°C. ....	97
Figura 39 – concentração de aovs no reactor r4 (com alcalinidade e ph=4) para uma carga de 10gcqo/l e t=55 ±1°C. ....	99
Figura 40 – concentração de aovs no reactor r5 (sem alcalinidade e ph=4) para uma carga de 10gcqo/l e t=55 ±1°C. ....	100
Figura 41 – produção total de metano nos reactores com e sem alcalinidade, em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 ±1°C e 55 ±1°C ( <i>fonte: isidoro 2009</i> ).....	106
Figura 42 – produção total de metano nos reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de ph e em função da carga orgânica para as temperaturas 55 ±1°C. ....	106
Figura 43 – conversão de cqo a metano (%) para os reactores com e sem alcalinidade em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C ( <i>fonte: isidoro 2009</i> ).....	107
Figura 44 – conversão de cqo a metano (%) para os reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de ph e em função da carga orgânica para as temperaturas 55 ±1°C. ....	108
Figura 45 – conversão de cqo a aovs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 37 ±1°C ( <i>fonte: isidoro 2009</i> ).....	110
Figura 46 – conversão de cqo a aovs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 55 ±1°C ( <i>fonte: isidoro 2009</i> ).....	110
Figura 47 – conversão de cqo a aovs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores r1 (com alcalinidade), r2 (sem alcalinidade), r3 (sem alcalinidade e ph≈5), r4 (com alcalinidade e ph≈4) e r5 (com alcalinidade e ph≈4) com carga orgânica de 10 g cqo/l para as temperaturas de 55 ±1°C, para 109 dias (a) e 35 dias (b). ....	111
Figura 48 – conversão de cqo a aovs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores r1' (com alcalinidade), r2' (sem alcalinidade), r3' (com alcalinidade e ph≈4), com carga orgânica de 30 g cqo/l para as temperaturas de 55 ±1°C, para 151 dias (a) e 35 dias (b). ....	112
Figura 49 – conversão global de coq a aovs (%) no fim de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55 ±1°C ( <i>fonte: isidoro 2009</i> ). ....	114
Figura 50 – conversão global de coq a aovs (%) no fim de cada ensaio para os reactores em função da carga orgânica para as temperaturas de 55 ±1°C.....	114
Figura 51 – conversão global de coq a aovs (g) no fim de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55 ±1°C ( <i>fonte: isidoro 2009</i> ). ....	116
Figura 52 – conversão global de coq a aovs (g) no fim de cada ensaio para os reactores em função da carga orgânica para as temperaturas de 55 ±1°C.....	116

Figura 53 – distribuição da massa de cço no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada paras as temperaturas de  $37 \pm 1^\circ\text{c}$  (*fonte: isidoro 2009*). ..... 118

Figura 54 – distribuição da massa de cço no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada paras as temperaturas de  $55 \pm 1^\circ\text{c}$  (*fonte: isidoro 2009*). ..... 119

Figura 55 – distribuição da massa de cço no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de ph para a carga orgânica de 10 g cço/l a  $55 \pm 1^\circ\text{c}$ . ..... 119

Figura 56 - distribuição da massa de cço no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de ph para a carga orgânica de 30 g cço/l a  $55 \pm 1^\circ\text{c}$ . ..... 120



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - principais datas da história da investigação dos phas.....	10
Tabela 2 – constituintes do leite de várias espécies de mamíferos, valores médios e percentagem ponderal (adaptado de hui, 1992 e de kirk-othmer, 1995). .....	18
Tabela 3 – composição dos lípidos do leite de vaca (adaptado de kirk-othmer, 1995). .....	19
Tabela 4 – valores aproximados (mg O <sub>2</sub> /l) de cbo <sub>5</sub> e cço de alguns produtos lácteos e efluentes de lacticínios em comparação com outro tipo de efluentes.....	21
Tabela 5 – características médias típicas de efluentes de lacticínios (adaptado de nadais 2002)..	21
Tabela 6 – estratégias de tratamento de efluentes utilizadas em algumas indústrias de lacticínios (adaptado de danalewitch, 1998). .....	24
Tabela 7 – evolução da tecnologia anaeróbia (alves, m.m., 1998) .....	30
<b>Tabela 8</b> – reacções associadas a degradação de aovs (thauer et al., 1977; schink, 1997; batstone et al., 2002; batstone et al., 2003). (adaptado de mcinerney e bryant, 1981). .....	41
Tabela 9 – reacções da fase de metanogénese (thauer et al., 1977; schink, 1997; batstone et al., 2002).....	42
Tabela 10 – plano experimental. ....	60
Tabela 11 – plano experimental de <i>isidoro, c., 2009</i> . .....	61
Tabela 12 – comparação de resultados entre reactores para os respectivos parâmetros. ....	61
Tabela 13 – composição das soluções de macronutrientes adicionados a cada reactor. ....	62
Tabela 14 – composição da solução de micronutrientes adicionados a cada reactor. ....	62
Tabela 15 – plano de monitorização do cada reactor.....	63
Tabela 16 – condições de operação do cromatógrafo gás-líquido para determinação de aovs.....	64
Tabela 17 – rectas de calibração para posterior determinação da concentração de cada aov. ....	66
Tabela 18 – condições de operação do cromatógrafo gasoso para determinação da composição de biogás.....	69
Tabela 19 – comparação de resultados entre reactores para os respectivos parâmetros. ....	74
Tabela 20 – legendagem dos reactores operados nos respectivos ensaios. ....	74
Tabela 21 - características das lamas daf e das lamas biológicas utilizadas nos ensaios.....	76
Tabela 22 - parâmetros operacionais aplicados no ensaio para os reactores r1 (com alcalinidade) e r2 (sem alcalinidade).....	76
Tabela 23 – resumo dos resultados obtidos no 1º ensaio. ....	82
Tabela 24 - parâmetros operacionais aplicados nos ensaios para os reactores r1' (com alcalinidade e r2' (sem alcalinidade). ....	83
Tabela 25 – resumo dos resultados obtidos no 2º ensaio. ....	90

Tabela 26 - características das lamas daf e das lamas biológicas utilizadas nos ensaios.....	93
Tabela 27 - parâmetros operacionais aplicados nos ensaios para os reactores r3' (com alcalinidade e ph=4) operado a 30 gcqo/l, a 55 ±1°C. ....	94
Tabela 28 - parâmetros operacionais aplicados nos ensaios para os reactores r3 (sem alcalinidade e ph=5), r4 (com alcalinidade e ph=4), r5 (sem alcalinidade e ph=4) operados a 10 gcqo/l, a 55 ±1°C. ....	94
Tabela 29 – concentração de aovs nos reactores operados a uma carga de 10gcqo/l e t=55 ±1°C. .....	101
Tabela 30 – concentração de aovs nos reactores operados a uma carga de 30gcqo/l e t=55 ±1°C. .....	101
Tabela 31 - factores de conversão para ácidos orgânicos voláteis (aovs). (yilmaz & demirer, 2008; alexio, 1998).....	145

# 1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

## *1.1 Motivação e identificação do problema*

O modelo de desenvolvimento económico que se desenhou nos últimos séculos está muito distante de ser socialmente justo, ecologicamente equilibrado e tão pouco não deixa de comprometer as necessidades das futuras gerações. O previsível esgotamento dos recursos fósseis no planeta tem levado, nos últimos anos, as comunidades científica e industrial a investir seriamente na investigação e desenvolvimento de fontes alternativas de energia e em novos produtos e materiais derivados de recursos renováveis, que possam gradualmente substituir os derivados da petroquímica, contribuindo assim para o desenvolvimento sustentável da humanidade.

Os plásticos, um produto resultante de matéria-prima de origem fóssil, nas suas diversas formas, foram uma das maiores invenções da Humanidade. Nos últimos 50 anos tornaram-se num dos materiais mais utilizados nas mais diversas aplicações. A sua versatilidade e suas propriedades técnicas, tais como, elasticidade, leveza, resistência, impermeabilidade e resistência química e o seu baixo custo de processamento foram as principais razões do seu sucesso (Zinn et al., 2001; Reddy et al., 2003). No entanto, os plásticos sintéticos não são degradáveis nem compatíveis com o ciclo biogeoquímico natural dos elementos. Não sendo biodegradáveis, a acumulação dos plásticos sintéticos tornou-se desde há algum tempo um problema ambiental grave. Em todo o planeta, esta situação tem-se agravado de ano para ano, dada a elevada produção deste tipo de polímeros. Estima-se que a produção mundial de plásticos sintéticos exceda as 100 milhões de toneladas por ano e que na Europa o consumo per capita anual seja cerca de 60 kg (Reddy et al. 2003).

Neste momento as formas mais utilizadas de “eliminação rápida” dos plásticos do meio ambiente são a reciclagem e a incineração, contudo uma grande percentagem ainda é depositada em aterro. A incineração, além de ser uma técnica onerosa, só pode ser aplicada a determinado tipo de plásticos, apenas aos que não libertam para a atmosfera compostos perigosos, como os ácidos clorídrico ou cianídrico (Johnstone 1990; Atlas 1993).

A reciclagem não é uma solução eficiente para o problema uma vez que, as propriedades termoplásticas deterioram-se com os ciclos de processamento sucessivos, e apenas uma gama limitada de plásticos, devido às suas características químicas, poderá ser reutilizada numa gama igualmente limitada de aplicações (Johnstone 1990; Fletcher 1993).

Estes problemas, aliados à emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) inerentes aos dois processos (incineração e reciclagem), fazem com que surja a necessidade de os substituir por alternativas viáveis do ponto de vista ambiental e económico (Pandey, 2004).

De facto, nos últimos anos, devido a uma maior consciencialização e sensibilidade do seu impacto no ambiente, sobretudo por este não ser biodegradável, e também associado às crescentes e constantes subidas do preço do petróleo e seus refinados, a indústria e a comunidade científica têm vindo a desenvolver esforços no desenvolvimento de uma solução ambiental e economicamente sustentável, nomeadamente na utilização de fontes renováveis de materiais biodegradáveis como, de organismos marinhos, produtos vegetais e resíduos biológicos naturais subaproveitados, susceptíveis de se tornarem fonte de novos biomateriais, como os biopolímeros ou polímeros biodegradáveis, vulgarmente conhecidos como bioplásticos.

Os biopolímeros são, na sua maioria, poliésteres biodegradáveis, ou seja, polihidroxicanoatos (PHAs), poliésteres alifáticos, polissacarídeos, copolímeros ou misturas destes. Destes polímeros, os derivados do amido, os ácidos polilácticos (PLAs) e os polihidroxicanoatos (PHAs) são considerados como os de maior potencial para substituir os plásticos não biodegradáveis. Os PHAs além da vantagem de serem biodegradáveis, apresentam ainda outras características

importantes, são biocompatíveis, produzidos a partir de recursos renováveis, possuindo propriedades termoplásticas e características físicas e mecânicas semelhantes às dos plásticos convencionais (Ojumu *et al.*, 2004; Squio & Aragão, 2004).

Entre as espécies produtoras de PHAs, que apresentam melhores produtividades, encontram-se a *Ralstonia eutropha*, a *Alcaligenes latus*, a *Burkholderia cepacia* ou a *Azotobacter vinelandii* (Daniel K. Y. Solaiman., et al 2006).

Estes polímeros oferecem uma vasta gama de propriedades físicas que vão desde produtos duros e quebradiços, até elastómeros. Um dos atractivos dos PHAs é o facto de poderem ser produzidos a partir de fontes de carbono renováveis, tais como açúcares e óleos vegetais (Platt and Rapra Technology Limited., 2006). Existe ainda a possibilidade de serem produzidos com resíduos provenientes de actividades agrícolas e industriais (Braunegg et al., 1998), tais como soro de leite e melaços (Platt and Rapra Technology Limited., 2006). A fonte de carbono disponível é um dos factores que determina o tipo de PHAs produzido, e tem um peso significativo no custo final do produto. Desta forma, a fonte de carbono é um dos componentes mais importantes na produção de PHAs e a principal variável passível de ser manipulada tendo em vista redução dos custos de produção. De facto, o preço dos PHAs é cerca de nove vezes superior ao do polipropileno quando se utilizam substratos sintéticos (~9€/Kg para os PHAs contra ~1€ para o polipropileno) (Biby, 2002). Contudo, o preço destes baixa para valores competitivos se o substrato for proveniente de fontes renováveis, dependendo também do rendimento do processo e do método utilizado na recuperação do polímero (Lee 1996a).

Acredita-se de facto que, a substituição dos plásticos de síntese química por plásticos de síntese biológica – biodegradáveis – possa reduzir em cerca de 20% o volume de resíduos produzidos anualmente (EPA, 2000). Na Europa, já em 2001, o consumo de polímeros biodegradáveis cifrava-se entre 25 e 30 milhares de toneladas, estimando-se um consumo de 0,5 a 1 milhão de toneladas destes materiais no ano 2010 (International Biodegradable Polymers Association, <http://www.ibaw.org>).

Contudo, a síntese de biopolímeros apresenta o seguinte inconveniente, o carbono envolvido na sua estrutura ao ser libertado para a atmosfera na forma de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) é considerado um gás causador de efeito de estufa. Por outro lado, se sintetizados a partir de recursos naturais, a alteração no balanço global de dióxido de carbono é nula. Deve, ainda, ser dada especial atenção à libertação de metano ( $\text{CH}_4$ ) em processos de degradação biológica anaérobica, tal como a sua deposição em aterro, o qual tem um grande impacto no agravamento do “efeito estufa” na atmosfera, com 21 vezes mais impacto que o  $\text{CO}_2$ . Sendo, igualmente, bastante nocivo para a camada do ozono, pelo que se recomenda a recolha deste gás.

O objectivo geral deste trabalho consiste no aproveitamento e consequente valorização de um subproduto da indústria de lacticínios na produção de AOVs, que são o substrato ideal para a posterior produção de biopolímeros e ainda a valorização energética em  $\text{CH}_4$ , nomeadamente a valorização das lamas gordurosas retidas nos sistemas de desengorduramento, as *lamas DAF*.

Estas são retiradas dos sistemas de tratamento, uma vez que, devido ao seu alto teor de gordura, inibem os tratamentos biológicos subsequentes (aeróbios e anaeróbios). Geralmente são depositadas em aterro, sendo ambientalmente incorrecto na medida que, em condições anóxicas irá gerar um gás com elevado potencial efeito de estufa, o  $\text{CH}_4$ . Esta deposição em aterro é legalmente regulamentada pela *Directiva 1999/31/CE* do Conselho, relativa à deposição de resíduos em aterro, transposta para direito Nacional pelo *Decreto-Lei 152/2002, de 23 de Maio*, posteriormente revogado pelo *Decreto-Lei 183/2009*, o qual impõe a todos os Estados-membros uma redução progressiva da deposição de resíduos orgânicos face às quantidades registadas em 1995, estipulando 65% de redução em 2016.

Os objectivos específicos são a optimização da fermentação acidogénica do substrato “*lamas DAF*”, nomeadamente na produção de ácidos orgânicos voláteis (AOVs) específicos, como o ácido propiónico e valérico (AOVs com número de carbonos ímpar), pois melhoram as propriedades termoplásticas dos

biopolímeros. Por outro lado, pretende-se verificar quais as condições de operação que maximizam o grau de conversão a CH<sub>4</sub>.

Nos ensaios efectuados neste trabalho, o parâmetro temperatura é constante ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ), uma vez que as reacções bioquímicas, bem como o crescimento e replicação celular, em reactores acidogénicos são promovidos a temperaturas elevadas, permitindo tempos de retenção hidráulicos baixos (Pavlostathis and Giraldo-Gomez, Hamelers, 1999; Yu et al., 2002b; Lu et al., 2007). De facto, vários autores referem elevadas concentrações de AOVs nesta gama de temperatura (Hernández-Uresti et al., 2002; Fukushi et al., 2003; Salsali et al., 2004; Puchajda and Oleszkiewicz, 2004), obtendo-se maiores taxas de remoção (Zinder, 1984). Em estudos anteriores promovidos pelo departamento de Ambiente da Universidade de Aveiro, nomeadamente por Isidoro, C., 2009 foram conduzidos, de forma mais exaustiva na gama mesofílica ( $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ), pelo que no presente trabalho operou-se exclusivamente na gama termofílica ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

Assim, pretende-se valorizar um resíduo orgânico sem valor comercial aparente, que ao evitar a sua deposição em aterro, possibilita uma economia de custos, inerente à sua deposição, bem como uma solução económica e ambientalmente sustentável que incide na síntese de biopolímeros a partir de fontes renováveis.



## 2. BIOPOLÍMEROS

### 2.1 *Substitutos dos polímeros*

Os polímeros, vulgarmente conhecidos como plásticos, são moléculas de elevado peso molecular, da ordem de milhares ou milhões de gramas por mole, de origem orgânica ou sintética. São macromoléculas, formadas a partir de dois elementos, carbono e hidrogénio, agrupados em unidades estruturais que se repetem, monómeros, cujo número de unidades repetidas designa o grau de polimerização (Raymond Chang, 1994).

Estes, nas suas diversas formas, contribuíram para a qualidade de vida da Humanidade, não só devido às suas propriedades que permitem, por exemplo, a coexistência de leveza, resistência e impermeabilidade no mesmo objecto, mas também porque têm hoje em dia uma importância inegável e decisiva no estilo de vida das pessoas. No entanto, os plásticos não são degradáveis nem compatíveis com o ciclo biogeoquímico natural dos elementos. A utilização de polímeros que se degradam depois de usados é a melhor opção para combater estes problemas. Juntamente com a fotólise, a biodegradação é uma das principais formas através das quais os polímeros se podem decompor, na qual a biodegradabilidade é definida como a capacidade que um composto tem em se decompor, principalmente em produtos inócuos, pela acção de organismos vivos, tais como microrganismos e fungos. Assim, produtos biodegradáveis são, geralmente, produtos sintetizados por entidades biológicas. Alguns polímeros de origem fóssil podem ser microbiologicamente degradados, no entanto esse processo é normalmente muito lento, e a maioria possui composições químicas resistentes a ataques enzimáticos. Isto já não acontece com os polímeros de origem biológica, muitos dos quais têm propriedades às dos polímeros sintéticos (Braunegg et al., 1998).

## 2.2 Classificação dos biopolímeros

Os biopolímeros podem ser classificados tendo em conta a sua estrutura, a origem, o tipo de produção bem como de processo, a sua importância económica, aplicação, etc. Cada uma destas classificações fornece várias informações (Smith, 2005).

Guilbert (2000) divide os biopolímeros conforme a sua origem em três grupos. Os biopolímeros de origem natural, que muitas vezes são usados em mistura com polímeros sintéticos; os biopolímeros de origem microbiana, formados a partir da fermentação de matérias-primas; os biopolímeros de origem biotecnológica, polimerizados por processos químicos convencionais e obtidos a partir da fermentação de matérias - primas e usados como substrato, sendo o material mais conhecido desta categoria o ácido poliláctico, PLA.

Averous (2002) adiciona a estes três grupos uma quarta classe, os biopolímeros derivados por síntese, obtidos na indústria petroquímica por via sintética clássica e representada por vários biopolímeros e subgrupos.

A figura 1 apresenta uma classificação típica dos biopolímeros em função da sua origem.

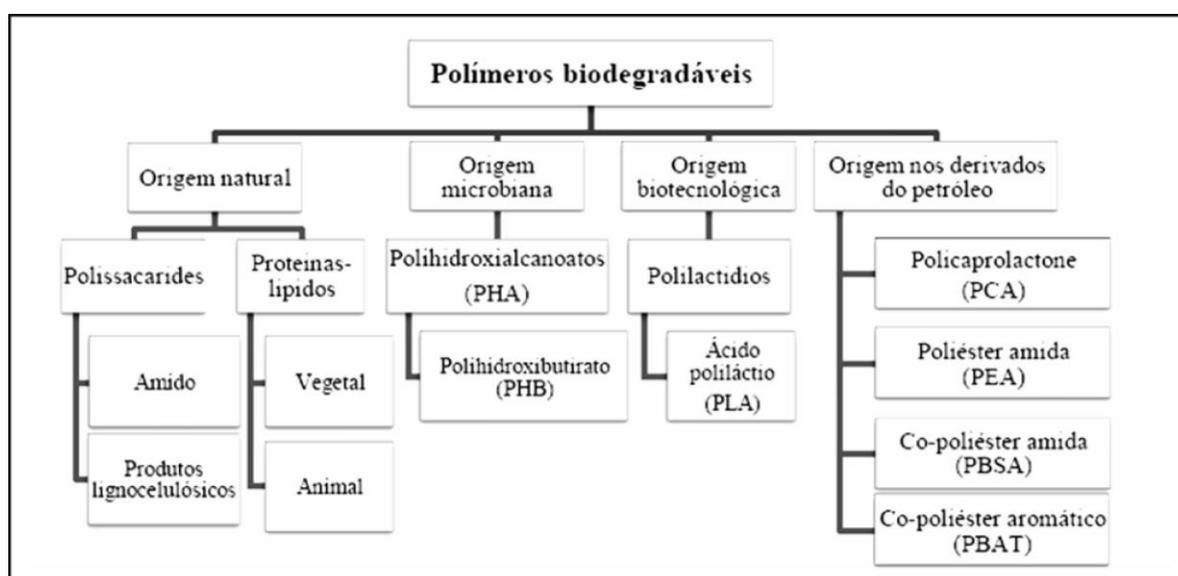


Figura 1 – Classificação dos biopolímeros segundo a sua origem (adaptado de Averous, 2002).

## **2.3 Polihidroxicanoatos (PHAs)**

A ocorrência da presença de PHAs em bactérias tem sido descrita desde 1926, quando o cientista Francês Lemoigne reportou a formação de PHB no interior da estirpe *Bacillus megaterium* (Lemoigne, 1926) (Tabela 1).

Os polyhydroxyalkanoates (PHAs) são polyesters de vários hidroxicanoatos que são sintetizados por numerosos microorganismos pertencentes aos reinos Bacteria e Archea (Solaiman et al., 2006), como uma fonte de reserva de carbono e energética. Os PHAs geralmente são sintetizados quando um nutriente essencial se encontra limitado (como azoto, fósforo e enxofre), na limitação de oxigénio e na presença excedente de carbono (Lee, 1996). Estes polímeros são acumulados como grânulos intracelulares até valores na ordem dos 90% do peso seco da célula (Reddy et al., 2003).

Tabela 1 - Principais datas da história da investigação dos PHAS.

Ano	Acontecimento	Referência
1903	Meyer detecta inclusões lipídicas em <i>A. chroococcum</i>	Sudesh et al. 2000
1926	Lemoigne identifica PHB em <i>B. megaterium</i>	Lemoigne 1926
1958	Primeira proposta para a função de PHB como fonte de carbono e de energia Referência ao envolvimento do acetil-CoA no metabolismo de formação de PHB	Macrae e Wilkinson 1958
1959	Identificação de PHB no género <i>Pseudomonas</i>	Doudoroff e Stanier 1959
1961	Primeiros estudos de metabolismo e regulação dos PHB Primeiros estudos da morfologia dos grânulos	Law e Slepecky 1961 Merrick e Doudoroff, 1961
1962	Determinação da temperatura de fusão Primeira patente relativa à produção por fermentação e extracção de PHB	Schlegel 1962 Braunegg et al. 1998
1963	Determinação da estrutura cristalina e primeiros métodos de extracção Primeiros estudos de biodegradação	Alper e Lundgreen 1963 Chowdhury 1963
1965	Determinação do peso molecular	Lundgren et al. 1965
1968	Identificação de PHB no género <i>Azotobacter</i>	Stockdale et al. 1968
1972	Identificação em lamas activadas de um polímero semelhante a PHB	Wallen e Davis 1972
1974	Primeira descrição de heteropolímeros compostos por HB, HV e unidades em C6 e C7	Wallen e Rohwedder 1974
1976	A companhia inglesa ICI inicia os estudos para a produção industrial de PHB	Sénior 1984
1982	A companhia inglesa ICI inicia a produção industrial de copolímeros de HB e HV (Biopol) a partir de glucose e ácido propiónico	Braunegg et al. 1998.
1985	Primeiro processo industrial de produção de PHB por <i>Alcaligenes eutrophus</i>	Holmes et al. 1985
1988	Primeiros organismos geneticamente modificados com genes que codificam a síntese de PHA Primeiros estudos de produção de PHB em plantas e de síntese <i>in vitro</i>	Sudesh et al. 2000

Várias bactérias sintetizam PHAs com diferente composição monomérica quando se disponibiliza uma adequada fonte de carbono. O polihidroxi butirato (PHB), constituído por monómeros de 3-hidroxi butirato, é o PHA mais estudado e caracterizado, sendo acumulado com maior frequência por bactérias (Madigan et al., 2000). Outros PHAs frequentemente acumulados por bactérias incluem o polihidroxi valerato (PHV), polihidroxi metil valerato (PMHV) e o polihidroxi metil butirato (PMHB). A sua presença e fracção relativa dependem do tipo de substrato usado pelo microorganismo. A fórmula química geral dos polihidroxi alcanóatos está representada na figura 2.

Foram já identificados mais de 100 monómeros diferentes como constituintes dos PHAs em várias bactérias. Contudo, apenas uma fracção reduzida destas tem vindo a produzir quantidades suficientes (Zinn et al., 2001) para permitir a caracterização das suas propriedades físicas e respectivo desenvolvimento de potenciais aplicações.

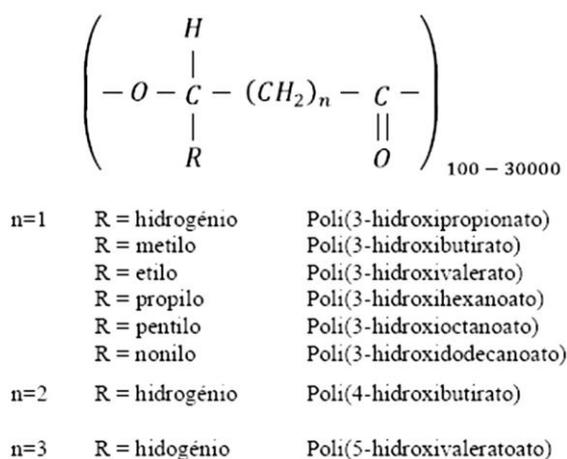


Figura 2 – Fórmula química geral dos PHAs (Lee, 1996).

Os PHAs de acordo com o número de átomos de carbono presente nos seus monómeros, podem ser divididos essencialmente em três tipos. PHAs de cadeia curta (scl-PHAs) que inclui unidades de monómeros de C3-C5, cadeia média (mcl-PHAs) formada por unidades de C6 a C14 (Li et al., 2007) e cadeia longa (lcl-PHAs) que consiste em monómeros > C14 (Luengo et al., 2003).

Devido à diversidade de unidades monoméricas, os PHAs apresentam uma vasta variedade em propriedades físicas. Os scl-PHAs, que incluem os polímeros

formados por 3-hidroxiбутирато (HB) e por 3-hidroxiуалерато (HV), são geralmente cristalinos, duros e quebradiços, exibindo propriedades semelhantes aos termoplásticos convencionais. Enquanto, os mcl-PHAs e lcl-PHAs apresentam baixa cristalinidade, mas maior elasticidade (Reddy et al., 2003), assumindo comportamentos físicos semelhantes aos elasteómeros ou adesivos (Solaiman et al., 2006). Isto é, o PHB é caracterizado como sendo um biopolímero duro e quebradiço, mas com a introdução de um monómero a sua elasticidade e flexibilidade aumenta, proporcionando-lhe propriedades semelhantes às do polipropileno. O PHB pode ser apresentado como co-polímero poli(3-hidroxiбутирато) (PHB-co-HB) e poli(3-hidroxiуалерато) (PHB-co-HV), ver figura 3, (Lenz & Marchessault, 2005; Bengtsson *et al.*, 2007).

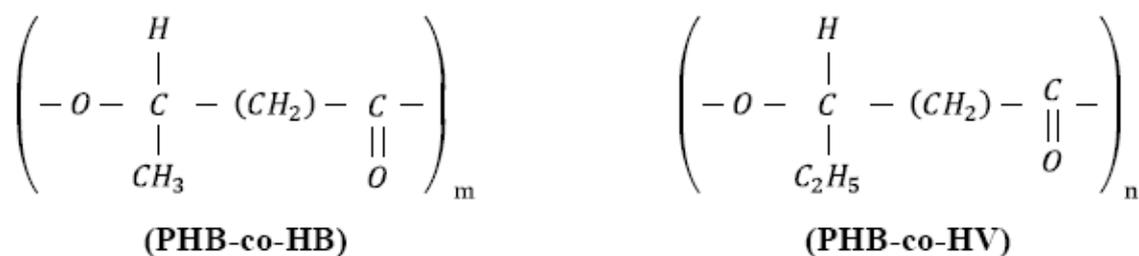


Figura 3 – Estrutura do copolímero poli(3-hidroxiбутирато) e copolímero poli(3-hidroxiуалерато).

## 2.4 Aplicações dos PHAs

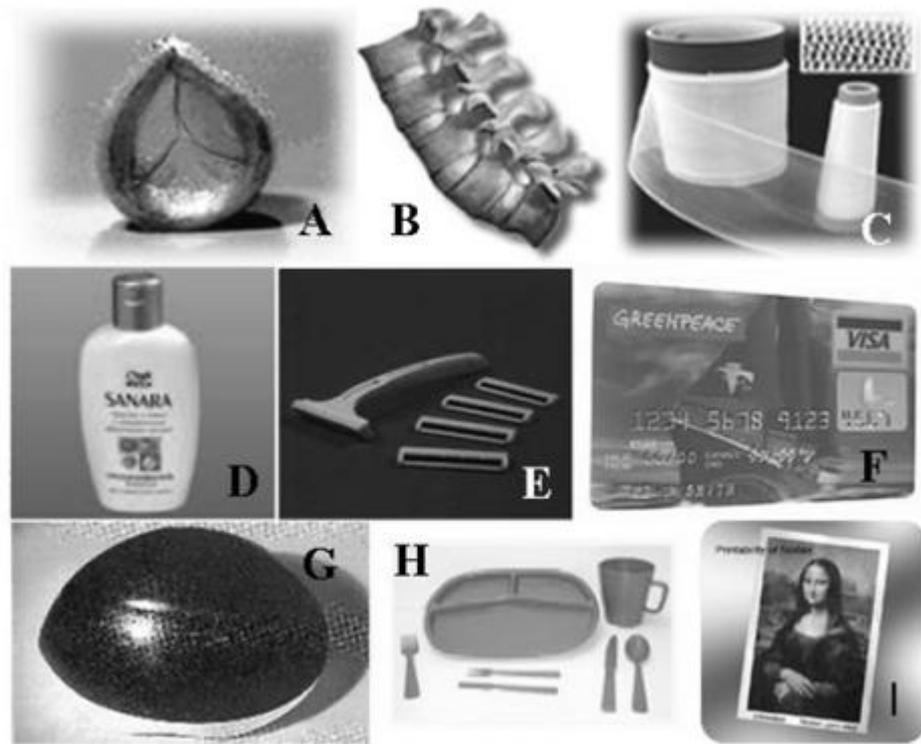
Os PHAs apresentam uma gama bastante variada de possíveis aplicações. Em medicina têm aplicações em cardiologia, nomeadamente em reparações do pericárdio, de válvulas e de artérias. Em cirurgia plástica, em ortopedia e em odontologia utilizam-se ao nível de reconstrução de tecidos e de ossos. Os PHAs

aplicam-se ainda na reparação de nervos e de vias urinárias e no tratamento de feridas como componentes de suturas, agrafos, parafusos, placas, etc. (Williams e Martin 2002). Na Figura 5 A, B e C apresentam-se exemplos de aplicações de PHAS em medicina. Na indústria farmacêutica podem ser utilizados como revestimentos de medicamentos, em dispositivos de libertação controlada de fármacos ou mesmo como precursores de uma série de outros compostos (Lafferty et al. 1988).

Características como a baixa permeabilidade ao vapor de água e média permeabilidade ao oxigénio, permitem a utilização dos PHAs em embalagens para alimentação ou cosmética.

Embora a sua biodegradabilidade não permita a sua utilização durante longos períodos (Van Tuil et al. 2000), podem ser aplicados no fabrico de garrafas, filmes ou sacos. No início dos anos 90, a empresa alemã *Wella* lançou no mercado uma marca de champô (Sanara) em frascos feitos de **Biopol®**, um copolímero formado por 91% de HB e 9% de HV, produzido pela *Metabolix Inc.* (Figura 5 D).

Outra aplicação para estes biopolímeros é em objectos descartáveis como fraldas, máquinas de barbear (Figura 5 E) ou produtos de higiene feminina. Também podem ser utilizados em tintas, adesivos, ligas metálicas, cerâmicas ou colas. Os PHAs são ainda aplicados na agricultura, como sistemas reguladores de nutrientes ou de pesticidas. Em 1997, a *GREENPEACE* lançou o primeiro cartão de crédito feito em **Biopol®** (Figura 5 F). Em 1995, Brandl et al. apresentaram um capacete de bicicleta feito de **Biopol®** e reforçado com fibras de celulose, o qual mostrou possuir uma capacidade de resistência ao choque comparável aos capacetes comerciais de plástico não biodegradável (Figura 5 G). Brevemente, a *Procter & Gamble* começará a produzir o **Nodax®**, um copolímero de HB e de hidroxihexanoato (HHx), com aplicações em copos, talheres e outros utensílios descartáveis (Figura 5 H) e até em papel fotográfico (Figura 5 I). Os PHAs possuem uma gama de utilizações muito variada, cobrindo praticamente todas as aplicações do polipropileno.



**Figura 4** – Aplicações dos PHAs: **A** – válvula cardíacas, **B** – reconstrução óssea, **C** – suturas cirúrgicas (fonte: <http://www.tePHAs.com>), **D** – frascos de champô da Wella em **Biopol**®, **E** – máquinas de barbear descartáveis, **F** – cartão de crédito em **Biopol**® (<http://www.greenpeace.org>), **G** – capacete de bicicleta (Brandl et al. 1995), **H** – utensílios descartáveis em **Nodax**®, **I** – papel fotográfico feito de **Nodax**® (<http://www.nodax.com>)

## 3 A INDÚSTRIA DE LACTICÍNIOS

### 3.1 Caracterização do sector

O leite tem sido uma fonte de alimento para a população humana desde tempos imemoriais como alimento e matéria-prima para outros produtos, como sejam os queijos, manteiga, etc. Consequentemente, a indústria de lacticínios é considerada um dos maiores segmentos mundiais da indústria na produção alimentar.

Nas indústrias de lacticínios geralmente, para além de se proceder à recolha e tratamento de leite para consumo, faz-se ao mesmo tempo a produção de vários produtos, seus derivados. Assim a mesma fábrica que recolhe e empacota o leite, produz igualmente queijos, iogurtes, natas, soros, leite em pó, etc. (Totzke, 1992).

A principal matéria-prima é o leite de vaca, contudo, em alguns produtos específicos podem ser usados leites de outros animais, como leite de ovelha e de cabra. A grande fatia da produção nacional de leite é direccionada para consumo, representando cerca de 88% do total. Os produtos mais importantes a seguir ao leite para consumo são os queijos e os iogurtes (Figura 5).

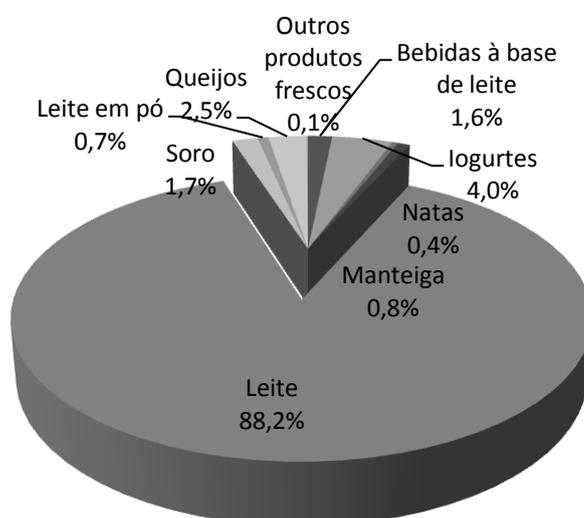


Figura 5 – Distribuição do leite produzido em Portugal por produtos (Fonte: INE 2006).

A produção leiteira mantém a sua ligação à indústria de lacticínios nacional, tendo esta vindo a canalizar o leite de vaca recolhido preferencialmente para a produção de produtos frescos.

Nos últimos anos, o sector industrial de lacticínios tem possuído elevada representatividade mundial na área de produção alimentar, tendo-se verificado uma grande modernização no sector. O número de explorações tem diminuído, passando das explorações familiares com poucos efectivos para explorações centralizadas e com maior número de efectivos por exploração e maior rendimento em leite por efectivo. De facto, houve um crescimento efectivo médio por exploração (mais 50% em 5 anos), o qual não foi acompanhado pelo aumento da Superfície Agrícola Utilizada (SAU). A evolução no rácio consumos/SUA (mais 30%) demonstra a crescente intensificação da produção leiteira, com o conseqüente aumento dos rendimentos por vaca leiteira (mais 9% em 5 anos), a qual se encontra actualmente ao nível da média da União Europeia a 15 (UE 15) (MADRP-GPP, 2007).

Em 2006 o volume de leite cru de vaca produzido foi de 1 925 milhões de litros, o que significou uma redução de 3,7%, relativamente ao ano transacto. A esta quebra não será alheia a tentativa de restrição da produção, em virtude da ultrapassagem de quota leiteira na campanha 2005-2006 (INE, 2007).

Em Portugal continental, no ano de 2005, aquando da realização do último recenseamento agrícola, existiam 1095109 de cabeças de gado bovino, das quais 200231 eram vacas leiteiras (INE, 2006). Este total do efectivo leiteiro encontra-se distribuído por diferentes tipos de explorações, em função do número de cabeças, sendo as explorações com 60 a 199 cabeças as que possuem um número superior aos outros tipos de exploração, representando 29% do total.

Embora com ligeiras alterações ao longo dos anos, no sentido da intensificação da produção leiteira, continua a existir um número elevado de explorações com poucos animais, sendo que mais de 50% das explorações possui entre 1 a 4 vacas.

A nível geográfico, no ano de 2005, em Portugal Continental, é de realçar que as regiões de Entre Douro e Minho e Beira Litoral detêm, no seu conjunto, mais de 70% do número total de explorações existentes. Igualmente para o efectivo leiteiro, estas regiões contribuem com aproximadamente 70% (figura 6).

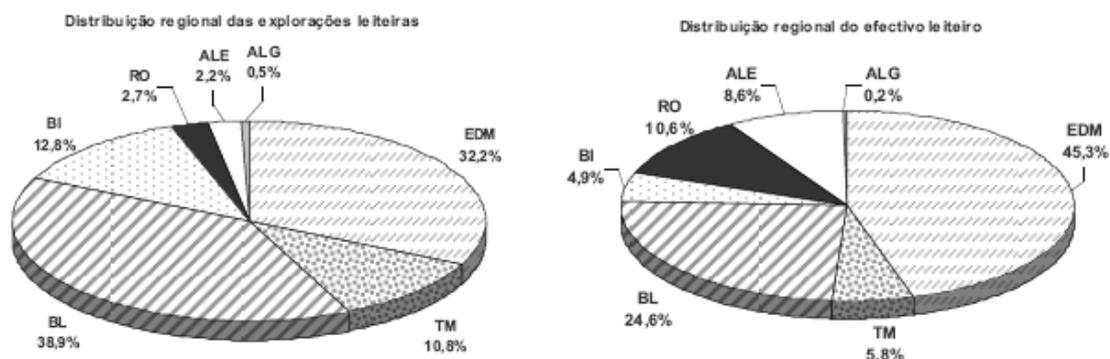


Figura 6 – Distribuição regional de explorações e do efectivo leiteiro em Portugal Continental (Fonte: INE 2006).



**Portugal Continental: 551 empresas**

Figura 7 – Distribuição das empresas do sector da indústria de lacticínios (CAE 15510 e 15520) existentes em Portugal continental, segundo a classificação NUTS II. (Fonte: Ministerio do trabalho e da solidariedade, 1997)

### 3.2 *Constituintes do leite e derivados*

A actividade principal da Indústria de lacticínios é a produção de alimentos à base de leite ou derivados deste. Os seus produtos vão desde o leite pasteurizado à manteiga, aos iogurtes, aos queijos, gelados e sobremesas geladas, ou produtos condensados ou em pó como o soro ou o leite (INETI, 2001).

Assim sendo, o leite é a matéria-prima de todos os produtos da indústria de lacticínios.

É constituído por 85-89% de água e 11-15% são sólidos totais, os quais compreendem sólidos gordos e não-gordos (Kirk-Othmer, 1995). Estes últimos são constituídos por proteínas (principalmente caseína), gorduras, hidratos de carbono (principalmente lactose), minerais e microorganismos. A percentagem de cada um dos constituintes do leite é variável conforme a raça da espécie animal, alimentação, estado de lactação e saúde do animal. Na tabela 2 apresenta-se a composição média do leite de várias espécies animais.

**Tabela 2** – Constituintes do leite de várias espécies de mamíferos, valores médios e percentagem ponderal (adaptado de Hui, 1992 e de Kirk-Othmer, 1995).

Espécie	Água	Gorduras	Proteínas	Lactose	Cinzas	Sólidos não-gordos	Sólidos totais
Humano	87,4	3,75	1,63	6,98	0,21	8,82	12,57
Vaca							
Holstein	88,1	3,44	3,11	4,61	0,71	8,43	11,87
Ayrshire	87,4	3,93	3,47	4,48	0,73	8,86	12,61
Suíça	87,3	3,97	3,37	4,63	0,72	8,72	12,69
Guernesey	86,4	4,5	3,6	4,79	0,75	9,14	13,64
Jersey	85,6	5,15	3,7	4,75	0,74	9,19	14,34
Cabra	87,0	4,25	3,52	4,27	0,86	8,65	12,90
Ovelha	82,0	7,2	4,6	4,8	0,9	-	-
Camelo	87,61	5,38	2,98	3,26	0,70	6,94	12,32
Cavalo	89,04	1,59	2,69	6,14	0,51	9,34	10,93

A gordura do leite é considerada a mais complexa de todas as gorduras comuns por ser uma mistura de triglicerídeos e diglicerídeos. Possuindo os três tipos de triglicerídeos, de cadeia curta, C24-C46, de cadeia média, C34-C54 e de cadeia longa, C40-C60. A gordura do leite possui também um valor elevado de ácidos

gordos, chegando mesmo a possuir mais ácidos gordos do que as gorduras vegetais. A tabela 3 apresenta a constituição dos lípidos do leite de vaca.

**Tabela 3** – Composição dos lípidos do leite de vaca (adaptado de Kirk-Othmer, 1995).

<b>Tipo de lípido</b>	<b>Gama de concentração</b>
Triglicerídeos de ácidos gordos, %	97,0 – 98,0
Diglicerídeos, %	0,25 – 0,48
Monoglicerídeos, %	0,016 – 0,038
Glicerídeos de ácidos, %	0,85 – 1,28
Glicerídeos aldeídicos, %	0,011 – 0,015
Éteres de gliceril, %	0,001 – 0,023
Ácidos gordos livres, %	0,10 – 0,44
Fosfolípidos, %	0,2 – 1,0
Cerebrósidos, %	0,013 – 0,066
Esteróis, %	0,22 – 0,41
Carbonilos neutros livres, ppm	0,1 – 0,8
Esqualeno, ppm	70
Carotenóides, ppm	7 - 9
Vitamina A, ppm	6 - 9
Vitamina D, ppm	0,0085 – 0,021
Vitamina E, ppm	24
Vitamina K, ppm	1

A indústria de laticínios sofreu um grande impulso comercial a partir do momento em que foram desenvolvidos métodos de preservação do leite (Nadais, 2002). O aumento do consumo e consequente produção de leite, conduziu à necessidade de aperfeiçoar as técnicas de produção, normas de segurança e higiene, transporte e equipamentos/recipientes para a sua conservação, de forma a garantir um produto saudável e com maior tempo de conservação.

Vários processos e tecnologias de produção foram adoptados, desde o arrefecimento, à centrifugação, pasteurização (UHT e HTST), sistemas de limpeza CIP e SIP até ao reaproveitamento (Kirk-Othmer, 1995).

Em regra, o nível de mecanização e automatização tem aumentado com o tamanho da unidade industrial, nomeadamente com a utilização de sistemas automáticos de lavagem e automação dos processos de fabrico. Um desses sistemas são os sistemas CIP e SIP, respectivamente *Clean in Place* e

*Sterilization in Place*, que permitem a limpeza e respectiva esterilização das tubagens numa forma automatizada e segura sem paragem de produção, havendo ainda a possibilidade de reutilizar as soluções lavadoras após filtração.

Nesta indústria, a produção engloba um grande número de operações unitárias sendo, no entanto, grande parte delas comuns aos vários processos de fabrico. Com exemplo disto podemos referir as operações de clarificação, pasteurização, homogeneização e separação. Estas em conjunto com a esterilização, coagulação e incubação podem ser consideradas as operações principais (INETI, 2001).

### **3.3 Características dos efluentes de lacticínios**

O principal impacto ambiental associado à indústria de lacticínios é a emissão de águas residuais, aliada à grande utilização de água em inúmeras operações, como lavagens de equipamentos e instalações, arrefecimento, aquecimento, etc. (INETI, 2001) Estimando-se a produção de cerca de 2-6 L de efluente/L de leite processado (RAC/CP, 2002; UNEP, 2000). No ano de 2007, em Portugal, foram processados 1281 milhões de litros de leite (INE, 2008; INETI, 2001), podendo-se estimar que tenham sido emitidos entre 2562 a 7686 milhões de litros de efluentes de lacticínios por aplicação desse factor.

Os efluentes são constituídos, em grande parte, na sua maioria por gorduras, soros e restos de leite e nata, juntando-se os provenientes das operações de limpeza de materiais e equipamentos.

Na tabela 4 são indicados valores aproximados de CBO<sub>5</sub> e CQO dos vários tipos de efluentes maioritários referidos, bem como de alguns produtos lácteos. De salientar que a perda de apenas de 1 litro de leite cru corresponde a uma poluição biológica de 2,2 habitantes equivalentes por dia (Nysten, 1981).

**Tabela 4** – Valores aproximados (mg O<sub>2</sub>/L) de CBO<sub>5</sub> e CQO de alguns produtos lácteos e efluentes de laticínios em comparação com outro tipo de efluentes.

Produto	CBO <sub>5</sub>		CQO	E.P./l de produto
	a)	b)		
Leite cru	110 000	100 000 – 120 000	190 000 – 210 000	2,2
Natas (creme)	400 000	860 000	400 000	-
Soro de queijo	20 000 – 45 000	35 000 – 42 000	69 000 – 75 000	0,48 – 0,8
Leite batido	70 000	-	-	-
Leite magro	-	70 000 – 75 000	100 000	1,4
Leitelho	-	73 000 – 75 000	102 000 – 110 000	1,4
Secagem de queijo	-	130 000	-	-
Efluentes de laticínios	-	2400 (170 -5700)	-	-
Efluentes de conservas de carne	-	1500	-	-
Efluente de processamento de aves	-	5000	-	-
Efluente doméstico	-	250 – 300	500	-

Referências: a) Nysten, 1981; b) de Haast e tal., 1984

**Tabela 5** – Características médias típicas de efluentes de laticínios (adaptado de Nadais 2002).

Parâmetro	Valor (desvio padrão)	Nº de referências usadas para o cálculo da média
CQO (mg/L)	6709 (786,2)	18
CBO <sub>5</sub> (mg/L)	2169 (102,0)	13
PH	8,6 (1,30)	7
SSV (mg/L)	308 (35,4)	3
SST (mg/L)	886 (61,6)	11
P (mg/L)	32 (4,40)	7
N (mg/L)	85 (6,10)	4
Óleos e gorduras (mg/L)	520 (37,9)	8
Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	476 (2,49)	2
T (°C)	29 (4,00)	3
Consumo de água (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> de leite processado)	3,62 (1,90)	5
Caudal de efluente (m <sup>3</sup> /ton leite processado)	154,63 (21,7)	2

Os efluentes de lacticínios, são constituídos por compostos orgânicos como os açúcares (sobretudo lactose), proteínas (das quais a caseína é a mais abundante) e lípidos (sobretudo triglicéridos) (Gomes et al., 2008). A presença destes constituintes é a razão para o facto dos efluentes de lacticínios serem considerados efluentes complexos (Danalewich et al., 1998; Haridas et al., 2005) e facilmente biodegradáveis com uma razão  $CBO_5/CQO$  entre 0,55-0,81 em fábricas com multi-produtos (Danalewich et al., 1998; Duarte and Oliveira, 1984; Öztürk et al., 1993; Passeggi et al., 2009). Também estão presentes outros componentes como, os sais minerais, vitaminas, etc. (Gomes et al., 2008).

De uma forma geral as unidades de transformação de leite produzem dois tipos de águas residuais: as águas industriais e as águas usadas nos sistemas de refrigeração e condensação quando não são reutilizadas no processo (Gutiérrez et al., 1991). Estas, em conjunto com as águas residuais domésticas produzidas na fábrica, por diluição, podem diminuir a carga orgânica das águas industriais embora a sua influência na composição relativa do efluente seja pouca (Gutiérrez et al., 1991; Omil et al., 2003).

Assim, os efluentes de lacticínios devido à concentração elevada de matéria orgânica facilmente biodegradável, bem como à proporção entre esta e o azoto e fósforo, são propícios à remoção biológica de nutrientes, viabilizando o seu tratamento em sistemas municipais. Contudo, devido ao aumento dos custos de descarga impostos pelas autoridades municipais nas últimas décadas, a maioria das indústrias do sector tratam os seus efluentes, parcial ou totalmente, no local (Danalewich et al., 1998). Sendo que a maioria das fábricas tem um sistema de descarga de águas domésticas directamente na rede de saneamento, enquanto que outras são tratadas numa ETARI construída no local (Britz et al., 2006; INETI, 2001).

Estes são, ainda caracterizados por uma produção intermitente, no qual o caudal e composição variam nas várias unidades industriais, dependendo do tipo de sistema e métodos de operação (Rico et al., 1991).

Os quais são afectados, pelas inevitáveis fontes de resíduos/perdas:

- Lavagem de tanques no cais de recepção do leite;
- Produto residual que permanece nas tubagens, bombas, tanques, cubas e equipamento de processo;
- Misturas aquosas de leite e sólidos suspensos descarregados durante os arranques, paragens e mudanças de produto dos pasteurizadores, separadores, clarificadores e evaporadores;
- Derrames e fugas devido a utilização imprópria do equipamento ou falta de manutenção;
- Perdas na operação de enchimento;
- Soro resultante do processo de fabrico de queijo.

O soro de leite tem a particularidade de apresentar uma menor proporção lipídica em relação aos efluentes globais dos lacticínios (Fang, 1991), contudo possui uma elevada carga orgânica sendo, por esse facto, difícil o seu tratamento, pelo que constitui um grave problema se rejeitado como efluente (INETI 2001).

De notar que, segundo dados de 1999, 25% do soro produzido tem como destino a pecuária, 12% é rejeitado como efluente, 3% vai para o fabrico de requeijão e 60% é concentrado e seco, sendo utilizado em rações animais ou para o fabrico de gelados (INETI, 2001).

Pelas razões descritas, é necessária a realização de estudos de tratabilidade para cada situação específica. Na tabela 6 apresentam-se algumas estratégias convencionais de tratamento de efluentes de lacticínios.

**Tabela 6** – Estratégias de tratamento de efluentes utilizadas em algumas indústrias de lacticínios (adaptado de Danalewitch, 1998).

Instalação	CQO (g/l)	ST (g/l)	PH	Ptotal (mg P/l)	Ntotal (mg N/l)	Sistema de pré - tratamento	Problemas
1	2,447	3,747	10,7	60	111,0	Equalização e lagoas arejadas. Correntes concentradas: aplicação no solo	-
2	7,619	6,342	6,2	74	106,0	Equalização, DAF, leitos percoladores, vala de oxidação, pós-tratamento em série de duas lagoas antes de descarga em rio, adição de químicos inclui polímeros para desidratação e H2SO4 para ajuste de pH	Sobregarga
3	2,032	-	11,3	49	140,0	Sistema de sulco. Correntes concentradas: aplicação no solo. Soros: descarregado directamente no rio	-
4	2,309	2,925	6,7	51	40,1	Sem pré-tratamento	Incumprimento ocasional de normas de descarga
5	3,556	3,583	6,9	36	134,0	Equalização	Incumprimento ocasional de normas de descarga. Excesso de P.
6	0,785	1,833	6,8	65	14,0	Sem pré-tratamento. Correntes concentradas: aplicação no solo.	-
7	2,909	4,180	9,4	134	62,0	Equalização. Correntes concentradas: aplicação no solo.	Excesso de P.
8	2,290	5,354	7,9	181	-	Correntes diluídas: sem pré-tratamento, aplicação no solo ou tratamento no sistema municipal. Correntes concentradas: equalização como pré-tratamento, lamas activadas (com adição de NH3) e vala de oxidação	-
9	4,895	4,495	10,3	79	122,0	Lagoas arejadas, irrigação na Primavera	Odores
10	1,644	2,023	7	29	83,0	Equalização, lamas activadas	Espumas frequentes nas lamas activadas. Dificuldade na oxigenação de lamas activadas. Caudal ocasional excessivo. Incumprimento ocasional de normas de descarga.
11	3,093	6,063	6,9	35	128,0	Equalização, lamas activadas com mistura completa	Sobrecarga. Bulking ocasional das lamas activadas. Espumas frequentes nas lamas activadas. Dificuldade de oxigenação destas. Excesso de P.
12	2,817	3,683	7,5	68	83,0	-	-
13	3,232	2,863	10,8	87	-	-	-
14	1,570	2,327	9,8	52	74,0	-	Bulking ocasional das lamas activadas. Caudal ocasional excessivo. Excesso de P.

**Nota:** Todas as instalações eram de produção de vários tipos de queijo, molhos à base de queijo e bebidas à base de leite.

Assim sendo, a prevenção e redução da poluição por águas residuais de indústrias de lacticínios são factores que merecem a sua devida atenção. Podendo ser equacionada por via da recirculação directa desta, bem como pela reutilização de compostos do efluente (p.e.: o uso de soro de leite seco no fabrico de gelados). Como exemplo de boas práticas, Nadais (2002), refere a utilização de águas provenientes das lavagens como primeiras águas de lavagem do ciclo de lavagem posterior e a recuperação da soda usada como agente de limpeza, podendo proporcionar poupanças no consumo de água a rondar os 50%, 60% no consumo de energia e cerca de 80% no consumo de detergentes.

Contudo, mesmo com a prática de uma boa gestão o efluente precisa de ser tratado de modo a reduzir a sua carga de poluente e dado que, por ser um efluente lacticínio a presença de gorduras é uma constante.

As gorduras no efluente causam problemas nos sistemas biológicos e precisam de ser removidas antes do tratamento biológico ser aplicado, nomeadamente antes dos tratamentos, aeróbio e anaeróbio.

A diferença principal entre estes dois tratamentos é a presença e ausência nomeadamente de oxigénio. No tratamento aeróbio é necessário fornecer oxigénio devido a usarem-se microorganismos dependentes de oxigénio, e no segundo processo tal necessidade não existir.

Regra geral é escolhido o tratamento anaeróbio, pois o sistema aeróbio apresenta algumas desvantagens (Man e Bekker, 1986):

- Fornecimento de oxigénio. Este aspecto é fulcral quando se considera o tratamento de efluentes com elevada carga orgânica como é o caso dos efluentes de lacticínios (Wheatland, 1974). Ou seja, é necessário promover o arejamento do efluente o que provoca gastos elevados de energia. Aproximadamente 3Kg O<sub>2</sub>/Kg CBO<sub>5</sub> para efluentes com CQO > 2000mg/L

(concentrados) de decomposição rápida, aliada a temperaturas elevadas. Ao contrário, os sistemas anaeróbios produzem, em regra, um excedente de energia, o biogás, que pode ser rentabilizado sob forma de energia térmica e eléctrica;

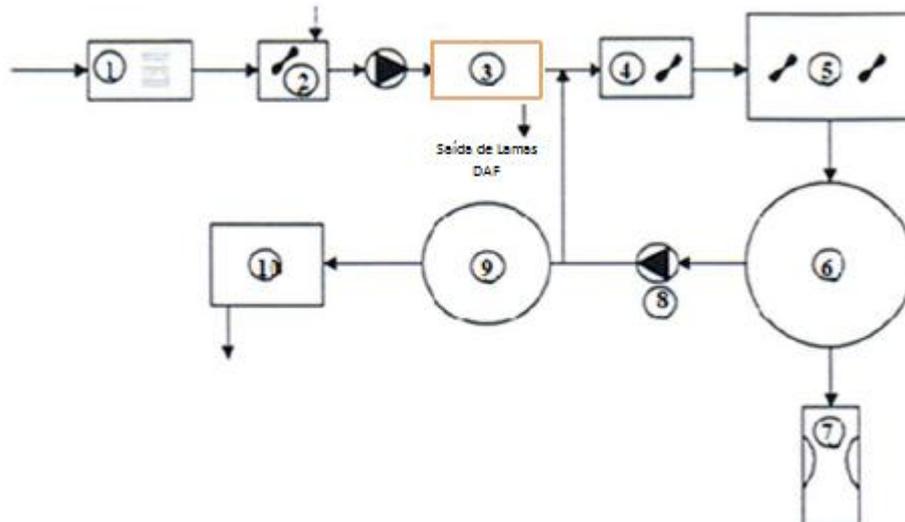
- Necessidade de um tanque de equalização para manter o processo estável, pela diminuição de variações no caudal, carga orgânica e pH;
- Também apresenta uma redução da eficiência do sistema pois, as características de sedimentação das lamas são fracas, o que pode complicar a separação nos decantadores e como tal pela perda pelo efluente final;
- O crescimento da biomassa é elevado o que faz com que o volume a rejeitar seja elevado o que provoca uma subida dos custos de deposição em aterro;
- Para cargas orgânicas elevadas são necessários maiores áreas comparativamente aos sistemas anaeróbios.

Em regra opta-se por uma parceria entre os dois processos. O pré-tratamento do efluente em condições anaeróbias para diminuir a carga do efluente e em seguida o tratamento aeróbio, como se pode constatar na figura 12 a) e b).

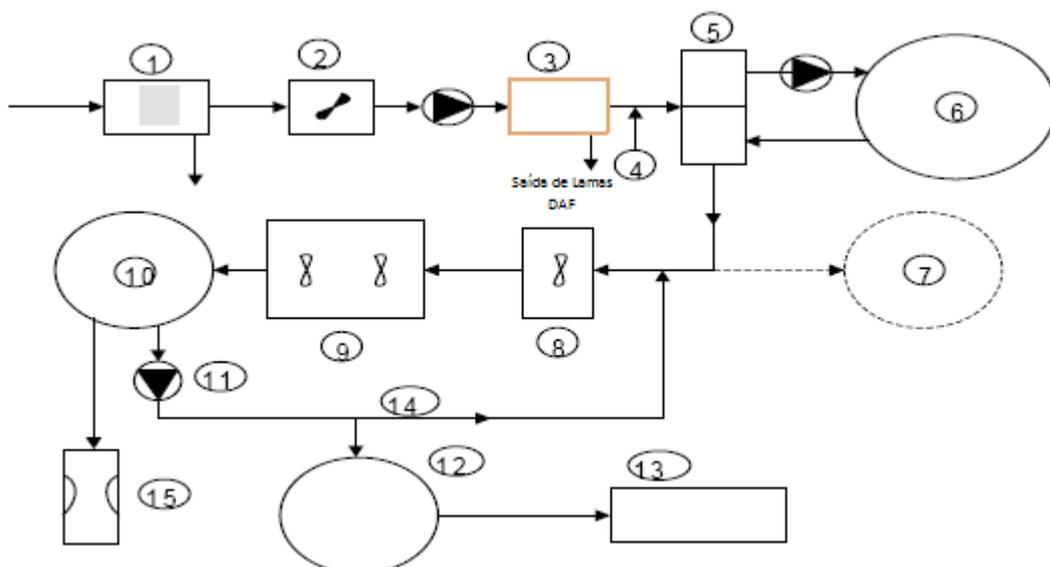
Em Portugal e nos outros países da Europa, a configuração, mais comum para uma estação de tratamento de efluentes de indústrias de lacticínios compreende uma gradagem, um desengordurador, um tanque de equalização, o tratamento biológico (em uma ou duas fases) com recirculação de lamas e a decantação do efluente final antes da descarga (Arroja, 2001).

Nos quais os sistemas de tratamento convencionais, são geralmente constituídos por leitos percoladores, lamas activadas, irrigação, lagunagem, digestão anaeróbia e ainda reactores SBR (Sequencing Batch Reactor). O tratamento biológico é, geralmente, considerado em três partes: pré-tratamento (gradagem remoção de gorduras, equalização, arejamento), remoção de carga orgânica e polimento final (Nemerow, 1971; Talbot, 1992; Pucal, 2000).

Na equalização podem ser adicionadas algumas lamas biológicas, especialmente para efluentes com cargas elevadas, reduzindo-se significativamente a CQO (Talbot, 1992).



- a)  
 1 - Gradagem; 2 - equalização; 3 - *desengordurador*; 4 - tanque de contacto (anaeróbio);  
 5 - Tanque de arejamento; 6 - decantador; 7 - controlo; 8 - bomba de circulação;  
 9 - Espessador; 10 - tratamento de lamas.



- b)  
 1 - Gradagem; 2 - equalização; 3 - *desengordurador*; 4 - neutralização; 5 - bombagem;  
 6 - Filtro biológico; 7 - decantador primário; 8 - tanque de contacto (anaeróbio);  
 9 - Tanque de arejamento; 10 - decantador secundário; 11 - bomba de circulação;  
 12 - Espessador; 13 - tratamento de lamas 14 - retorno de lamas; 15 - controlo

**Figura 8** – Sistemas de tratamento biológico a) em uma e b) em duas fases  
 (Fonte: Nadais H., 2002).



## 4. DIGESTÃO ANAERÓBIA

### 4.1 *Evolução histórica*

A digestão anaeróbia refere-se a um diverso leque de sistemas de tratamento biológico de águas residuais do qual estão excluídos o oxigénio dissolvido e o azoto na sua forma de nitrato. Este processo ocorre naturalmente em diversos meios tais como sedimentos, fontes termais e sistemas gastrointestinais. Os processos anaeróbios têm sido usados desde o fim do século XIX, inicialmente para estabilizar sólidos. Os reactores usados eram simples tanques de cimento no qual os sólidos eram colocados na forma de lamas e eram deixados a decomporem-se. Empregavam altos tempos de retenção hidráulicos, na ordem dos 60 dias ou mais. Posteriormente utilizaram-se as, ainda actuais, lagoas anaeróbias de cobertura natural (camada biológica espessa à superfície) (Nadais, 2002).

Gradualmente, foi sendo observado que a decomposição podia ser acelerada aquecendo o digestor a uma temperatura de cerca de 35°C e misturando o conteúdo do reactor de modo a providenciar condições uniformes (Grady et al., 1999). Até aos anos 1970, os sistemas anaeróbios à escala industrial eram praticamente aplicados na estabilização de lamas provenientes de sistemas de tratamento aeróbios, operando-se com digestores de volume elevado e tempos de retenção hidráulicos de 20-25 dias (Annachhatre, 1996).

Estes conhecimentos, conjugados com a necessidade de melhorar a performance e estabilidade do processo anaeróbio, especialmente sentida a partir da década de 70 do século passado, e as normas mais restritas de descarga de efluentes levaram a que fossem desenvolvidos novos tipos de reactores e processos. Estes processos, denominados de alta carga, tiveram um grande incremento na sua utilização devido à subida dos custos energéticos que se verificou a partir de 1970. Esta conjuntura estimulou também a investigação na área, que aumentou consideravelmente o conhecimento dos mecanismos e microbiologia do processo (Iza et al., 1991; vanLier et al., 2001). Esta evolução iniciou-se com o tratamento de efluentes facilmente biodegradáveis, em que a CQO estava presente na sua

maioria na forma de hidratos de carbono solúveis e passou pelo desenvolvimento de reactores de alta carga, que permitem o tratamento de grandes volumes de efluente, separando o tempo de retenção hidráulico do tempo de retenção celular. Esta separação permite que fiquem retidos no reactor as espécies microbiológicas de crescimento lento, atingindo concentrações elevadas, independentemente do caudal utilizado. Com efeito, as bactérias metanogénicas podem ter tempos de duplicação de 30 dias (Henze e Harrernoes, 1983; Van den Berg, 1977). Isto permite aplicar caudais elevados a estes reactores, logo cargas também muito elevadas, sem perigo de perda de biomassa. Nos reactores mais modernos, como sejam os de leito fixo, na forma de biofilmes e bioflocos, os tempos de retenção hidráulicos podem chegar a 0,5 horas e a cargas de 50 kgCQO/m<sup>3</sup>.dia (Wheatley et al., 1997; Annachhatre, 1996) Na **tabela 7** apresenta-se um resumo da evolução da tecnologia anaeróbia aplicada ao tratamento de efluentes.

Tabela 7 – Evolução da tecnologia anaeróbia (Alves, M.M., 1998)

<b>Evolução</b>	<b>Data</b>	<b>Descrição</b>
Metano	1776	Volta descobre o metano e chama-lhe "ar inflamável"
Fossa séptica	1883	Exclusão de ar, combinação de sedimentação de sólidos e digestão (liquefacção)
Tanque de Travis	1904	Tanque com câmara de hidrólise separada
Tanque de Imhoff	1905	Modificação do Tanque de Travis
Digestor de lamas aquecido	1927	Aumento das velocidades de reacção
Digestor de lamas de "alta-carga"	1950	Melhoramento do contacto entre microorganismos e substrato, com aumento das velocidades de reacção
Processo de contacto, Clarigester	1950	Retenção da biomassa ou recirculação permitindo TRH mais curtos.
Filtro anaeróbio ascendente	1969	Solução dos problemas de sedimentação/separação das lamas no processo de contacto
Reactor de leito de lamas e fluxo ascendente (UASB)	1969	Solução dos problemas de sedimentação de lamas no processo de contacto, e problemas de caminhos preferenciais no filtro
Reactor anaeróbio rotativo de contacto biológico (AnRBC)	1976	Melhoramento do filtro, com eliminação dos caminhos preferenciais
Reactor de biofilme e leito expandido (AAFEB)	1978	Melhoramento do filtro, com eliminação de caminhos preferenciais
Filtro anaeróbio descendente	1979	Melhoramento do filtro, com eliminação de caminhos preferenciais
Leito fluidizado	1981	Semelhante ao AAFEB, mas com maior velocidade ascendente, evitando a acumulação de sólidos inertes
Reactor híbrido	1982	Configuração híbrida contendo um leito de lamas (UASB) e um filtro ascendente (FA), com vista a alta carga (UASB) e boa retenção de sólidos (FA).
Reactor anaeróbio de chicanas	1982	Modificação do AnRBC, também considerada modificação do UASB.
Reactor anaeróbio de gás-lift (AGLR)	1983	Tentativa de solucionar a separação sólidos-gás e reter os sólidos em reactores UASB e FA tratando efluentes não acidificados.
Reactor de circulação interna	1986	Comparável ao AGLR. A recirculação do líquido é induzida pelo biogás, não há recirculação forçada de biogás
EGSB	1988	Modificação do UASB, melhor contacto biomassa/substrato devido a velocidades ascendentes de líquido mais elevadas
ASBR	1991	Variação da razão substrato/microorganismos durante a operação por ciclos, facilita a agregação da biomassa em aglomerados com boas sedimentabilidade

Actualmente os sistemas de tratamento anaeróbio compreendem efluentes de baixa e alta carga orgânica.

Os processos de tratamento biológico de efluentes classificam-se em aeróbios e anaeróbios. Nos sistemas aeróbios o oxigénio é utilizado como aceitador de electrões, oxidando e por conseguinte, degradando a matéria orgânica presente no efluente. Nos sistemas anaeróbios a matéria orgânica, numa perspectiva de produtos finais, na ausência de oxigénio, é convertida a metano e dióxido de carbono. A figura seguinte representa os balanços mássicos típicos para os dois sistemas.

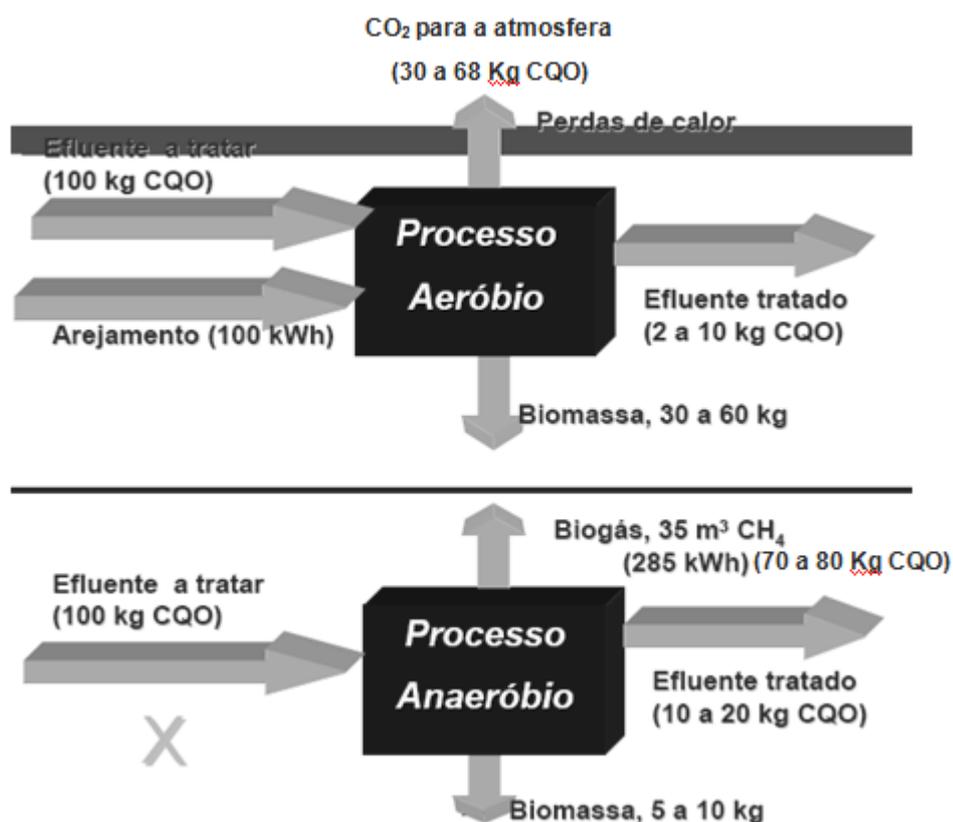


Figura 9 – Balanços mássicos para processos aeróbios e anaeróbios (adaptado de Alves, M.M., 2003)

As vantagens e desvantagens destes dois sistemas de tratamento têm sido amplamente discutidas por vários autores.

A digestão anaeróbia oferece algumas vantagens em relação aos processos aeróbios, igualmente usados para remover matéria orgânica de efluentes, tais

como (Lettinga et al., 1980; Olthoff e Oleszkiewicz, 1983; Eckenfelder et al., 1988; Van Lier et al., 1997; Razo-Flores et al., 1997):

- Não há necessidade de fornecer oxigénio às bactérias, o que implica uma poupança de energia. Além disso, as elevadas produções de biogás em alguns casos fazem com que a agitação mecânica não seja necessária, aumentando a poupança a nível energético.
- As necessidades em nutrientes são muito menores (até 10 vezes menos).
- Para a mesma carga aplicada, a produção de lamas em excesso é muito menor (cerca de 5 vezes menos), a quantidade absoluta, em kg de matéria orgânica (kg sólidos/kg CQO removida) é baixa e a capacidade de desidratação é muito elevada, o que implica grandes poupanças, dado que o custo de deposição das lamas é hoje um dos maiores custos das estações de tratamento de efluentes.
- As lamas produzidas em excesso estão, geralmente, sem organismos patogénicos, logo bem estabilizada e com boas características para utilização como condicionadores de solos.
- Um dos produtos finais da digestão anaeróbia é o metano, um gás que pode funcionar como fonte de energia renovável. O processo de digestão anaeróbia pode funcionar em simultâneo como processo de tratamento de águas e processo de produção de energia, devido à produção de metano.
- O processo de digestão anaeróbia consegue degradar compostos que são tóxicos para os processos aeróbios (por exemplo, compostos organoclorados, pesticidas, solventes, PCB). Neste processo estes compostos perigosos ou são totalmente degradados, ou então são transformados em compostos menos perigosos (McCarty, P.L., 2001).
- A digestão anaeróbia pode suportar cargas muito mais elevadas que as cargas usadas nos processos aeróbios, sendo portanto necessário um volume muito menor de reactor anaeróbio para a mesma carga a tratar. Nos sistemas anaeróbios modernos, para altas cargas e espaço disponível relativamente reduzido, para tratar 50 000 kg CQO.dia<sup>-1</sup> é necessário menos de 1350 m<sup>2</sup> aplicando reactores UASB (Riggall, 1998). No caso em que a área disponível não seja um obstáculo, a solução ideal poderá ser

um sistema de menor custo de instalação, por exemplo, lagoas de estabilização (Switzenbaum, 1995).

- A capacidade da biomassa anaeróbia manter a sua actividade após longos períodos sem operar (mais de um ano), sem qualquer séria deterioração da sua actividade, mantendo também as suas características de sedimentação (peso específico superior ao da água), o que pode ser especialmente importante em indústrias sazonais.
- Tolerância a condições ambientais adversas, tais como a baixa temperatura, e a presença de tóxicos.

## ***4.2 Digestão anaeróbia de efluentes de lacticínios***

Os efluentes de lacticínios são considerados como sendo efluentes complexos porque têm na sua composição na maior parte das vezes, várias classes de compostos biodegradáveis, como sejam os hidratos de carbono, proteínas e gorduras, nas suas formas solúveis e particuladas, e que estão presentes sob a forma de moléculas de alto peso molecular.

Os hidratos de carbono são consensualmente tidos como de degradação fácil. O principal carboidrato presente nos efluentes de lacticínios é a lactose. Esta foi reportada como sendo rápida e completamente degradada em reactores de alta carga (Pavlostathis e Giraldo-Gomez, 1991).

A lactose é um carboidrato prontamente disponível para ser fermentado a ácidos orgânicos voláteis e daí a metano.

Alguns autores afirmam que como é um substrato de fácil degradação, a sua presença inibe a produção de enzimas necessárias para a degradação de substratos mais complexos, como proteínas particuladas e ácidos gordos, sendo então os carboidratos degradados em primeiro lugar, e só depois são degradadas as proteínas e lípidos (Yu e Fang, 2001).

Os aminoácidos não parecem ter efeitos inibidores na biomassa nas concentrações normalmente encontradas nos efluentes de indústrias de lacticínios (Perle et al, 1995).

No entanto, se a concentração de proteínas for muito elevada, a amónia resultante da sua degradação pode provocar algum grau de inibição, consoante as condições do sistema, nomeadamente o pH e a temperatura. A caseína tem um ponto isoelectrónico de 4,6, abaixo deste pH, a proteína é desnaturada e precipita, impedindo a sua degradação, dado que a precipitação leva à formação de agregados sólidos de matéria orgânica difíceis de degradar (Caineetal, 1991;Zeemanetal, 1997).

Os lípidos são formados por glicerol e ácidos gordos. O ácido gordo mais abundante nos lípidos do leite é o ácido oleico. Durante a digestão anaeróbia, os lípidos são primeiro hidrolisados a ácidos gordos de cadeia longa (AGCL) dos quais, o ácido oleico é um exemplo. Este passo é catalisado por enzimas extracelulares chamadas lipases. A hidrólise de lípidos ocorre rapidamente comparada com os passos subsequentes {Hanaki et ai. 1981; Angelidaki e Ahring, 1992). Os AGCL resultantes são degradados a acetato e hidrogénio via  $\beta$ -oxidação. A degradação dos AGCL ocorre depois de estes serem adsorvidos na parede celular. A adsorção é muito mais rápida que o processo de biodegradação (Nadais, 2002). Os lípidos são prejudiciais ao processo de degradação anaeróbia porque originam flutuação de biomassa e a sua consequente perda do reactor. Os AGCL podem ser inibitórios a baixas concentrações (Henderson 1973; Hanaki et ai, 1981; Roy et ai, 1985; Rinzema et ai, 1989; Koster and Crarner, 1987; Angelidaki and Ahring 1992). Vários mecanismos de inibição foram propostos:

- Inibição do crescimento por inibição competitiva da síntese de AGCL essenciais para a estrutura de novas bactérias (Batstone, 1999);
- Desacoplamento da cadeia transportadora de electrões das proteínas envolvidas na regeneração de ATP ou transporte de nutrientes essenciais para a célula (Sheu and Freese 1972);
- Adesão à parede celular bacteriana e restrição da passagem de nutrientes essenciais (Henderson, 1973).

Foi proposto que a forma associada do ácido gordo de cadeia longa é a forma responsável pela inibição e que a inibição é o resultado da adsorção de AGCL na superfície da parede celular. Deste modo, factores tais como a razão superfície da célula/concentração AGCL e pH podem ter influência (Hwu et al., 1996). Em geral, a inibição forte é irreversível (tóxica), dado que um abaixamento da concentração de AGCL não restitui a actividade inicial à biomassa (Angelidaki e Ahring, 1992; Hwu et al., 1996). Apesar de os organismos mais sensíveis à inibição serem os metanogénicos acetilclásticos, todos os outros grupos de organismos são afectados em grau variável (Angelidaki e Ahring, 1992; Hwu et al., 1996).

Apesar de os AGCL poderem afectar o processo anaeróbio, a adaptação também é possível, e uma comunidade bem aclimatada degrada prontamente alimentações com alto teor de lípidos. Isto ocorre porque a degradação eficiente de AGCL será capaz de remover AGCL à mesma velocidade à qual eles são produzidos pela hidrólise dos lípidos. No entanto, para evitar altas concentrações transientes, é necessário efectuar uma aclimação gradual (Nadai, 2002).

### ***4.3 Microbiologia e bioquímica: etapas do processo***

A digestão anaeróbia (DA) é um processo mediado por uma comunidade complexa de microrganismos que promovem a decomposição e degradação da matéria orgânica e, ocasionalmente inorgânica, nos respectivos compostos químicos mais simples, na ausência de oxigénio (potencial de oxidação redução <-200 mv), permitindo, deste modo, a estabilização bioquímica de resíduos orgânicos. O azoto não é utilizado para o crescimento e replicação celular, é geralmente libertado no efluente, ou reduzido a amónia. O bom funcionamento do processo está dependente da acção cooperativa e sequencial de diversas bactérias de diferentes grupos tróficos (McHugh et al., 2003). Segundo Henze e Harnemoes (1983), a bioquímica e a microbiologia do processo de degradação anaeróbia são muito mais complexos do que as do processo aeróbio, devido à maior variedade de caminhos metabólicos disponíveis para a comunidade

anaeróbia. As bactérias anaeróbias de diferentes grupos tróficos apresentam muitas vezes relações de sincronia (benefício mútuo), cooperando entre si de modo a aproveitar de modo eficiente quantidades muito reduzidas de energia que normalmente se verificam no processo de conversão da matéria orgânica em metano (Schink, 1997). Este processo tanto pode ocorrer naturalmente no ambiente como em digestores em ambiente controlado. Os produtos finais da digestão anaeróbia (DA) são o biogás, constituído essencialmente por metano (CH<sub>4</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), e o produto digerido, constituído por biomassa microbiana (Kelleher et al., 2000). O biogás produzido possui um poder calorífico de aproximadamente 21-25 MJ/m<sup>3</sup>, cerca de 30-40% inferior ao do gás natural (Appels et al., 2008).

No processo de DA podem ser utilizados diferentes tipos de substratos, nomeadamente: lamas domésticas, resíduos resultantes da actividade agropecuária (estrume de vacas, porcos e aves), fracção orgânica dos resíduos sólidos municipais e efluentes resultantes da actividade industrial (indústria de bebidas, produtos alimentares, amido, açúcar, processamento de papel, matadouros, químicos, leite, cosméticos, entre outros).

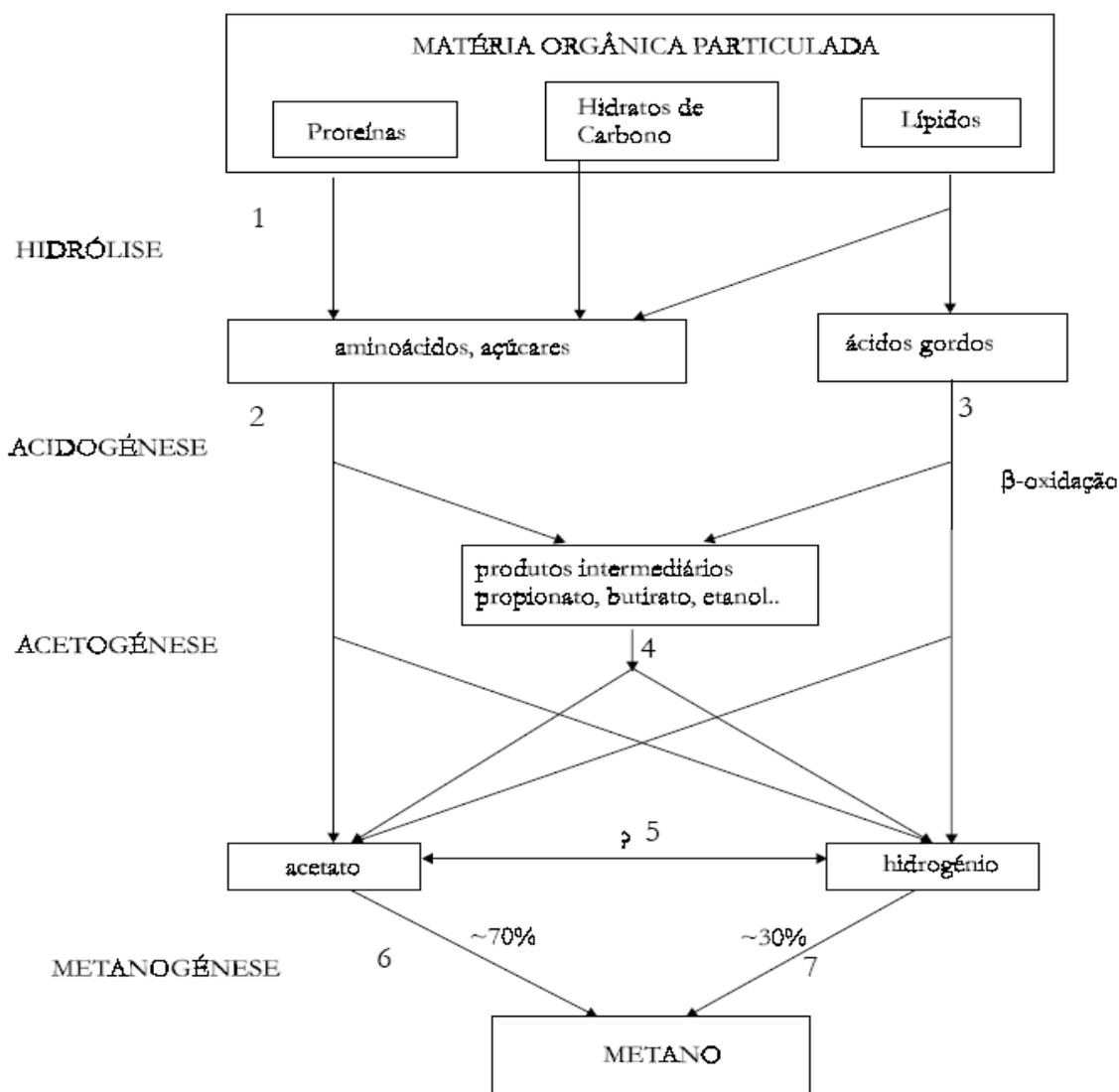
Inicialmente considerado um processo em duas fases, acidogénese e metanogénese, (MCCARTY, 1964), tem-se revelado crescente em complexidade e, actualmente, é possível distinguir pelo menos 7 etapas, assinaladas no esquema da figura seguinte:

1. **Hidrólise** de biopolímeros incluindo proteínas, hidratos de carbono e lípidos que são convertidos nos seus monómeros, respectivamente aminoácidos, açúcares e ácidos gordos de cadeia longa;
2. Fermentação de aminoácidos e açúcares (**acidogénese**);
3. Oxidação anaeróbia dos ácidos gordos de cadeia longa;
4. Oxidação anaeróbia dos produtos intermediários (ácidos voláteis, com excepção do acetato) a acetato e Hidrogénio (**acetogénese**);
5. Homoacetogénese

6. Conversão de acetato a metano pelas bactérias acetoclásticas (*metanogénese*);

7. Conversão do hidrogénio a metano pelas bactérias hidrogenotróficas (*metanogénese*).

Estas 7 etapas podem ser agrupadas em 4 sequências de degradação principais, assinaladas na figura seguinte (hidrólise, fermentação, acetogénese e metanogénese), e que se descrevem seguidamente.



**Figura 10** – Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de GUJER E ZEHNDER, 1983). Os valores expressos em %, indicam fluxo de substrato na forma de CQO equivalente em metano.

O primeiro passo da degradação anaeróbia, consiste na **hidrólise** onde enzimas hidrolíticas extra-celulares degradam compostos particulados, de elevado peso molecular (glúcidos, proteínas e lípidos), em compostos monoméricos e oligoméricos solúveis, dado que as bactérias não têm capacidade para assimilar material orgânico na forma particulada. Permite assim, que estas atravessem as membranas celulares, podendo ser utilizadas pelas bactérias fermentativas (BF) durante o processo subsequente de acidogénese. Dentro da célula, estas moléculas são utilizadas de modo a providenciar-lhe energia e a sintetizar componentes celulares (Parawira et al., 2005).

Os glúcidos são hidrolisados a monossacaridos, as proteínas a aminoácidos e os lípidos a ácidos gordos voláteis de cadeia longa (AGCL) e glicerol (Miron et al., 2000). O bom funcionamento do processo de hidrólise está dependente do contacto eficiente entre a biomassa e o substrato (Angelidaki e Sanders, 2004). Durante a degradação das proteínas é libertado azoto sob a forma de amónia (Vavilin et al., 2008).

O processo de hidrólise envolve varia fases, tais como: produção de enzimas, difusão, absorção, reacção e a desactivação da enzima (Vavilin et al., 2008). É normalmente um processo lento, sendo os lípidos, no caso geral, hidrolisados mais lentamente, que as outras macromoléculas (Henze e Harremões, 1983).

A velocidade do processo de hidrólise de gorduras depende fundamentalmente do comprimento das cadeias dos ácidos gordos (AGCL), do estado do substrato (sólido ou líquido) e da área superficial específica (Martinelle e Hult, 1994). A velocidade do processo de hidrólise de proteínas depende fundamentalmente da sua composição (globular ou fibrosa), área superficial e solubilidade (McInerney, 1988). A presença de concentrações elevadas de amónia no líquido em digestão pode inibir o processo de hidrólise, uma vez que provocam uma redução da produção enzimática (El-Mashad et al., 2004).

A hidrólise consiste na fase limitante da velocidade do processo anaeróbio quando o substrato em digestão é constituído por um teor elevado de sólidos e partículas como os efluentes de suínos, bovinos e lamas domésticas (Vavilin et al., 1996). Quando são utilizados substratos de composição simples e facilmente biodegradáveis, a metanogénese ou a acetogénese apresentam-se, normalmente, como o passo limitante do processo anaeróbio (Vavilin et al., 1997). No primeiro caso, geralmente submetem-se os efluentes ricos em compostos insolúveis a um pré-tratamento (Bhattacharyya *et al.*, 2008; Fuentes *et al.*, 2008)

Tal como indicado no esquema da figura 11, os substratos utilizados no processo fermentativo (**acidogénese**), são os monómeros resultantes da hidrólise que, são transportados através da membrana celular para o interior da célula. A degradação dos substratos solúveis, tais como aminoácidos e açúcares, os quais podem ser degradados sem um aceitador de electrões externo gera como principais produtos, ácidos orgânicos voláteis (AOVs) – acético, propiónico, butírico, etc., e álcoois, aldeídos, cetonas, hidrogénio e dióxido de carbono, em menores concentrações. Factores ambientais como o PH e a pressão parcial de  $H_2$ , determinam em que quantidade os compostos mais reduzidos, como o etanol, são formados (DGE, 2000).

As bactérias fermentativas (BF) possuem a capacidade de reoxidar o respectivo portador de electroes como o  $NADH_2$ , através da redução de protões a  $H_2$ . Esta reacção é favorável apenas em condições de baixa pressão parcial de  $H_2$  ( $<10$  Pa) (Schink, 1997). Nestas condições as BF reoxidam o  $NADH_2$  principalmente por produção de  $H_2$ , metabolizando o piruvato quase exclusivamente a acetato,  $CO_2$ , e  $H_2$  (Figura 12).

Em condições de pressão parcial de  $H_2$  elevada, a produção de  $H_2$  a partir do  $NADH_2$  torna-se desfavorável (Schink, 1997), alterando o fluxo de electrões da produção de  $H_2$  para a produção de produtos intermediários reduzidos como etanol, lactato, propionato e butirato (Figura 12).

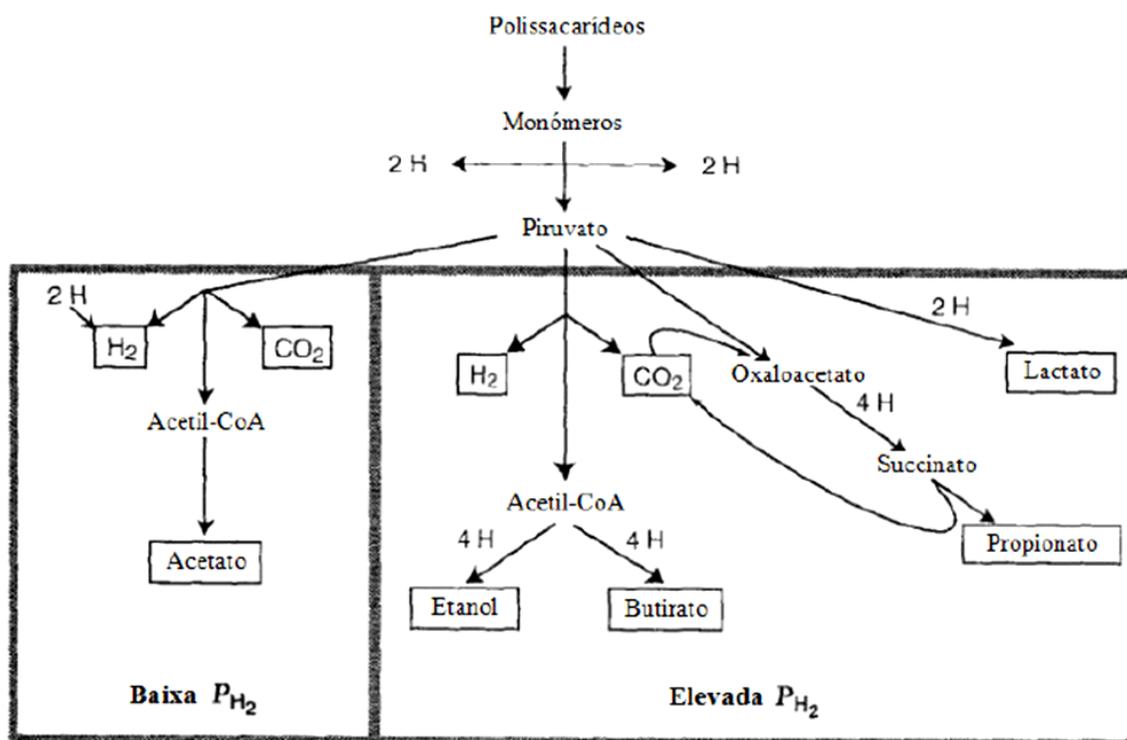


Figura 11 – Produtos do metabolismo fermentativo mediante a pressão parcial de H<sub>2</sub> (adaptado de McInerney e Bryant, 1981).

Nos digestores anaeróbicos em boas condições operacionais, a concentração de H<sub>2</sub>   normalmente muito baixa devido à enorme capacidade de utilização de H<sub>2</sub> por parte das bactérias utilizadoras de hidrog nio (bactérias sulfato-redutoras e bactérias acetog nicas e metanog nicas hidrogenotróficas) (Rodríguez et al., 2005; Guwy et al., 1997).

Em condições de pH baixo associado a uma elevada pressão parcial de H<sub>2</sub>, verifica-se a produção de butirato como produto principal (Rodríguez et al., 2006). Para valores de pH < 5, o produto de etanol aumenta (Ren et al., 1997; Horiuchi et al., 1999). Ao atingir um valor de pH=4 todo o processo fermentativo pode parar (Hwang et al., 2004).

O efeito de concentrações crescentes de substrato tem um efeito análogo ao do abaixamento do pH, na medida em que o principal produto da degradação sofre

uma alteração para a produção de acetato, depois para butirato e depois para etanol (Rodriguez et al., 2006).

Na **acetogénese**, as bactérias acetogénicas (BA) procedem a degradação dos compostos formados durante a fase anterior (acidogénese), como AOVs (propionato, butirato, valerato), álcoois, alguns aminoácidos e compostos aromáticos. Os produtos resultantes da degradação destes compostos são H<sub>2</sub>, formato, CO<sub>2</sub> e acetato, que vão servir de substrato para as bactérias metanogénicas (BM) (McInerney, 1999). O acetato e o propionato são os produtos intermediários que se encontram usualmente em maior quantidade nos digestores anaeróbios (Vavilin et al., 1995).

A degradação do propionato é muitas vezes o passo limitante da velocidade de degradação do processo anaeróbio (Batstone et al., 2003, Nielsen et al., 2007), sendo este oxidado em acetato, bicarbonato, H<sub>2</sub> ou formato (De Bok et al., 2004). A degradação do n-butilato e n-valerato procede via β-oxidação, produzindo acetato e acetato + propionato, respectivamente (Batstone et al., 2003, Pind et al., 2003a). O iso-butilato é degradado por intermédio de uma isomerização a n-butilato, para ser degradado posteriormente via β-oxidação (Angelidaki e Ahring, 1995), enquanto o iso-valerato é degradado exclusivamente a acetato (Pind et al., 2003a). Contudo, as reacções da β-oxidação só são termodinamicamente favoráveis se a pressão parcial de hidrogénio for mantida em níveis baixos, inferiores a 10<sup>-4</sup> atm, o que é conseguido por associações sintróficas com bactérias metanogénicas hidrogenotróficas ou sulfatoredutoras (Alves, et al., 2005).

Na tabela 8 são apresentadas as principais reacções associadas a fase de acetogénese.

**Tabela 8** – Reacções associadas a degradação de AOVs (Thauer et al., 1977; Schink, 1997; Batstone et al., 2002; Batstone et al., 2003). (adaptado de McInerney e Bryant, 1981).

Substrato	Reacção	ΔG° (KJ/mol)	ΔG° (KJ/mol)
<b>Propionato</b>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH + 2H <sub>2</sub> O → CH <sub>3</sub> COOH + 3H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	+ 76,2	- 14,6
<b>i-butirato</b>	CH <sub>3</sub> (CHCH <sub>3</sub> )COOH + 2H <sub>2</sub> O → 2CH <sub>3</sub> COOH + 2H <sub>2</sub>	+ 48,4	- 25,9
<b>Butirato</b>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH + 2H <sub>2</sub> O → 2CH <sub>3</sub> COOH + 2H <sub>2</sub>	+ 48,4	- 25,9
<b>i-valerato</b>	CH <sub>3</sub> (CHCH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> COOH + 2H <sub>2</sub> O + CO <sub>2</sub> → 3CH <sub>3</sub> COOH + H <sub>2</sub>	+ 20,2	- 36,8

ΔG° para 25°C, pH 7, P<sub>H<sub>2</sub></sub> 10<sup>-5</sup> atm, P<sub>CH<sub>4</sub></sub> 0,7 atm, ácidos orgânicos 1mM, e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 0,1 M

Na metanogénese, as bactérias metanogénicas (BM) constituem um grupo diverso de microrganismos que obtêm energia para o crescimento a partir de reacções que conduzem a produção de metano. Durante a metanogénese, o acetato, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, formato, metanol e metilamina são convertidos em CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> pelas BM (Ren et al., 1997). As BM estão dependentes do bom funcionamento de todas as fases anteriores para o fornecimento dos substratos adequados para a sua actividade.

As BM dividem-se em 3 grupos tróficos que apresentam vias metabólicas diferentes: as bactérias metanogénicas acetoclásticas (BMA), que convertem o acetato em metano; as bactérias metanogénicas hidrogenotróficas (BMH) que convertem o H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> em metano, e as bactérias homoacetoclásticas (BHA) que realizam a inter-conversão entre o acetato, H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (Tabela 9).

**Tabela 9** – Reacções da fase de metanogénese (Thauer et al., 1977; Schink, 1997; Batstone et al., 2002).

	<b>Reacção</b>	<b>ΔG° (KJ/mol)</b>
<b>Metanogénese hidrogenotrófica</b>	4H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> → CH <sub>4</sub> + 2H <sub>2</sub> O	- 135,0
<b>Metanogénese acetoclástica</b>	CH <sub>3</sub> COOH → CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub>	- 31,0
<b>Oxidação do acetato</b>	CH <sub>3</sub> COOH + 2H <sub>2</sub> O → 4H <sub>2</sub> + 2CO <sub>2</sub>	+ 104,0
<b>Homoacetanogénese</b>	4H <sub>2</sub> + 2CO <sub>2</sub> → CH <sub>3</sub> COOH + 2H <sub>2</sub> O	- 104,0

A capacidade das BMH utilizarem H<sub>2</sub> tem um papel regulador crucial no processo anaeróbio, na medida em que controla os produtos obtidos pela actividade das BF e estabelece as condições termodinâmicas requeridas para a degradação dos AOVs e ácidos aromáticos (McInerney, 1999). Em condições normais de operação, a utilização do H<sub>2</sub> pelas BMH é mais favorável comparativamente a homoacetogenese, e a utilização do acetato pelas BMA é mais favorável comparativamente a sua oxidação em H<sub>2</sub>. As BMH exibem maior actividade em condições de elevada pressão parcial de H<sub>2</sub> (Schink, 1997).

Cerca de 60-90% do metano produzido em digestores anaeróbios resulta da degradação do acetato pelas BMA (Schulz et al., 1997). A incapacidade das BMA em degradar o acetato pode resultar numa descida do pH e na paragem de todo o processo anaeróbio (Zinder, 1984). As BMA são particularmente sensíveis a

determinadas condições ambientais como concentrações elevadas de amónia, sais e AOVs (Demirel e Scherer, 2008; Schnurer et al., 1999). Nestas situações, o acetato é convertido em  $H_2$  para ser posteriormente convertido em metano pelas BMH (Schnurer et al., 1999; McInerney, 1999). A actividade das BMA é independente da pressão parcial de  $H_2$ .

#### **4.4 Factores ambientais que interferem com o processo**

Em todos os processos de tratamento biológicos de águas residuais, a remoção eficaz de poluentes e contaminantes depende, não só do potencial metabólico dos microrganismos, mas também da existência de condições ambientais adequadas que permitam a sua actividade.

##### **4.4.1 PH e alcalinidade**

Como em quase todas as operações bioquímicas, o pH tem um significativo impacto na performance do processo anaeróbio, com a actividade a diminuir assim que o pH se desvia dos valores óptimos. O pH afecta o metabolismo, nomeadamente a utilização de fontes de carbono e energia, as reacções de síntese e a produção de metabolitos extracelulares (Sakharova e Rabotnova, 1976). Além disso, a morfologia e a estrutura são também afectadas, com consequências para os fenómenos de adesão e floculação (Forage et al., 1985), aspectos de crucial importância nos digestores anaeróbios. Os organismos metanogénicos são de entre todos os microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia, aqueles que são mais sensíveis às variações de pH (Grady et al., 1999).

Valores de pH entre 6.8 e 7.4 geralmente proporcionam condições óptimas para actividade dos microrganismos metanogénicos, enquanto que para os acidogénicos, o valor óptimo de pH situa-se entre os 5 e 6 (Zoetemeyer et al., 1982; Attal et al., 1986), pelo que toleram mais facilmente valores baixos de pH, podendo até continuarem em actividade a  $pH \approx 4$  (Yu & Fang, 2002). Estes autores

avaliaram a acidogénese de efluentes lácteos num intervalo de pH de 4 a 6,5 ( $T=37^{\circ}\text{C}$ ) e constataram que mesmo para valores extremos de pH ( $\text{pH}=4$ ) a acidificação do efluente à base de hidratos de carbono, proteínas e lípidos processava-se atingindo-se eficiências de conversão dos compostos poluentes, na ordem dos 69%, 34% e 16%, respectivamente. Concluíram também que o pH tem um efeito relevante na distribuição dos produtos da acidificação, sendo favorecida a produção de acetato e butirato para  $\text{pH}>5,5$  e a de propionato a  $\text{pH}<5,5$ . Os mesmos autores (Yu & Fang 2003) estudaram a acidificação de efluentes com outro tipo de substrato (efluente rico em proteínas), utilizando um efluente sintético à base de gelatina, para uma gama de valores de pH de 4 a 7. Concluíram também que para este tipo de substrato, o pH influencia significativamente a distribuição dos produtos da acidificação, sendo favorecida a produção de acetato e butirato para  $\text{pH}>6,0$  e a de propionato a  $\text{pH}<5,0$ .

Resultados contrários são retratados por Fang & Liu (2002) que estudaram a influência do pH na acidificação da glucose. Estes autores concluem que a produção de propionato é suprimida para valores baixos de pH por inibição das bactérias produtoras de propionato, enquanto que as bactérias produtoras de butirato são tolerantes a valores baixos de pH e por isso a produção de butirato é favorecida nessas condições. Outros estudos (Zoetemeyer et al., 1982b; Attal et al., 1986; Horiuchi et al., 2002) dão conta da influência do pH, não tanto como aspecto inibidor do processo de acidificação de substratos, mas como condicionador da distribuição dos produtos resultantes da acidificação.

Assim sendo, pode-se concluir que a influência do pH do meio no processo de acidificação anaeróbia parece depender da composição inicial do substrato a ser degradado.

A capacidade tampão do líquido em digestão é um parâmetro importante para a estabilidade do processo. A capacidade tampão pode ser definida como a resistência de uma solução a mudanças de pH pela presença de substâncias que teriam tendência a alterá-lo. Os principais compostos que contribuem para o efeito tampão são o bicarbonato e os AOVs (Moosbrugger et al., 1993). Outros compostos que influenciam o balanço do pH, quando presentes em

concentrações elevadas, são as várias formas de amónia ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$ ), sulfuretos ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ) e fosfatos ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). Os efluentes de pecuárias (vacarias, suiniculturas, etc.) possuem normalmente uma elevada capacidade tampão, devido a elevada concentração de compostos de amónia, tornando o pH estável entre 7,5-8 (Pind et al., 2003b).

A alcalinidade pode ser considerada um indicador da estabilidade do processo, melhor do que o PH, na medida em que a acumulação de AOVs não provoca uma variação sensível de PH enquanto não for ultrapassado o poder tampão do meio, mas pelo contrário, conduz a uma diminuição da alcalinidade total (DGE, 2002).

#### **4.4.2 Temperatura**

O controlo da temperatura é crucial para o bom funcionamento do processo, uma vez que este parâmetro influencia a actividade biológica dos microrganismos e, conseqüentemente, a velocidade a que ocorre o processo de digestão e de biodegradação dos compostos (Angelidaki e Sanders, 2004).

A DA é um processo aplicado numa gama variada de temperatura, tais como: regime psicófilo ( $<20^\circ\text{C}$ ), regime mesófilo ( $25-40^\circ\text{C}$ ), e regime termófilo ( $45-60^\circ\text{C}$ ). Num processo anaeróbio tendo como objectivo a biometanização, a operação a temperaturas termófilicas possibilita a obtenção de maiores taxas de remoção, visto que as estirpes termófilicas apresentam maiores taxas de crescimento que as mesófilicas (Pohland, 1992; Kim et al., 2002). Esta propriedade permite que os reactores termofílicos apresentem uma menor volumetria para atingirem a mesma eficiência que os processos mesofílicos.

De facto, a utilização de temperaturas elevadas no processo (regime termófilo) apresenta algumas vantagens, tais como (Van Lier, 1995): a) Aumentar a solubilidade dos compostos orgânicos, facilitando a sua assimilação pelos microrganismos; b) Aumentar as taxas das reacções químicas e biológicas, acelerando o processo de conversão e permitindo a utilização de reactores de menores dimensões e com um TRH inferior; c) Permitir melhorar a difusibilidade dos substratos solúveis, aumentar a taxa de transferência da fase líquida para a

fase gasosa devido a diminuição da solubilidade da fase gasosa; d) Diminuir a viscosidade da fase líquida, diminuindo os requisitos energéticos para a sua mistura por agitação, para além de melhorar a separação da fase líquida da fase sólida da biomassa; e) Aumentar a taxa de destruição de bactérias patogénicas.

Contudo, a utilização de temperaturas elevadas também apresenta algumas desvantagens tais como (Mara e Horan, 2003; Duran e Speece, 1997; Sung e Liu, 2003): a) Aumentar a fracção de amónia livre ( $\text{NH}_3$ ) que é inibitória para os microrganismos; b) Aumentar a forma não dissociada de AOV; c) Requerer quantidades elevadas de energia para a manutenção da temperatura; d) Proporcionar um sobrenadante de pior qualidade com quantidades elevadas de sólidos dissolvidos; e) Gerar um maior potencial de ocorrência de problemas de odores; f) A estabilidade do processo é bastante inferior comparativamente a do regime mesófilo.

Como tal, a utilização de temperaturas termófilas exige maior controlo do processo, comparativamente à digestão mesófila. A manutenção de uma temperatura constante no digestor é crucial para o bom funcionamento do processo anaeróbio, uma vez flutuações pontuais e/ou frequentes na temperatura do digestor podem provocar efeitos severos nas bactérias, particularmente nas metanogénicas.

Para além disso, a temperatura tem um efeito significativo na pressão parcial do  $\text{H}_2$ , influenciando a cinética do metabolismo sincrónico. Em condições padrão, as reacções endotérmicas (requerem energia exterior) como a degradação do propionato em acetato,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$ , tornam-se reacções energeticamente mais favoráveis a temperaturas superiores, enquanto reacções exergónicas, como a metanogénese hidrogenotrófica, são desfavorecidas a temperaturas superiores (McInerney, 1999).

Em processos acidogénicos, Yu et al. (2002) estudaram a influência da temperatura na acidogénese de um efluente sintético de lacticínios em dois reactores UASB. Para as temperaturas testadas ( $37^\circ\text{C}$  e  $55^\circ\text{C}$ ) e a pH constante (5,5) não observaram diferenças ao nível do grau de acidificação atingido, nem

em termos de remoção da carência química de oxigénio para todas as cargas orgânicas testadas (4 a 24 g CQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>): as condições termofílicas e as mesofílicas reflectiram-se em variações de 1 a 7% no grau de acidificação. Yu & Fang (2003) estudaram a acidificação de efluentes ricos em proteínas, utilizando um efluente sintético à base de gelatina; chegaram à conclusão que a eficiência de degradação da gelatina e o grau de acidificação atingidos eram ligeiramente favorecidos pelo aumento de temperatura (20°C para 55°C): aumento de 9% na eficiência de degradação e de 21% no grau de acidificação. Contudo, os autores concluíram que o efeito do parâmetro temperatura não era relevante quando comparado com a influência de pH no processo de acidificação (pH=4 a pH=7, T=37°C): aumento de 63% relativamente à eficiência de degradação da gelatina e de 116% em relação ao grau de acidificação atingido.

Resumindo, para processos acidogénicos o parâmetro temperatura não parece ser tão relevante como o é nos processos anaeróbios convencionais (com biometanização) e os estudos analisados indicam também que o efeito da temperatura está relacionado com o tipo de substrato em estudo.

#### **4.4.3 TRH**

O TRH é um parâmetro fundamental para o dimensionamento de um sistema de tratamento anaeróbio, e exprime o tempo médio que um determinado volume de efluente permanece no digestor. Para um reactor com um volume  $V$  (m<sup>3</sup>), sujeito a uma alimentação com um caudal  $Q$  (m<sup>3</sup>/d), o TRH é dado pela seguinte expressão:

$$\text{TRH} = V/Q$$

O TRH deve ser sempre superior ao tempo de duplicação das bactérias de crescimento lento (nomeadamente das BM), quando se pretende maximizar a produção de metano, de modo a garantir a degradação da matéria orgânica com a permanência de um quantitativo suficiente e equilibrado de microrganismos no digestor.

A maximização do TRH é preferível para uma maior estabilidade do processo e a minimização da produção de lamas (Speece, 1983).

#### **4.4.4 Agitação**

A agitação adequada do digestor é fundamental para o funcionamento óptimo do processo de digestão anaeróbia. A agitação tem a função de melhorar o contacto entre o substrato do afluente com a biomassa no interior do digestor, possibilitando condições uniformes de temperatura e de concentração de substrato (Ward et al., 2008). Para além disso, a agitação evita a formação de camadas de espuma superficiais e a deposição de lama no fundo do digestor (Appels, 2008). Os métodos de agitação auxiliares utilizados vulgarmente são a recirculação exterior da lama, agitação mecânica interna, ou injeção interna do biogás produzido (Igoni et al., 2008). A injeção interna do biogás é um método eficaz para evitar a formação de uma camada superficial de espuma. A formação de espuma no digestor tem que ser controlada uma vez que esta impede a libertação do biogás do meio líquido, causando uma sobretensão no digestor (Appels, 2008).

Em diversos estudos efectuados em digestores completamente agitados concluiu-se que a intensidade de agitação do líquido em digestão tem influência na inibição do processo, assim como na sua recuperação após um desequilíbrio causado por sobrecarga orgânica (McMahon et al., 2001; Stroot et al., 2001; Vavilin e Angelidaki, 2005). Stroot et al. (2001) estudaram a acumulação de acetato e propionato durante o tratamento de resíduos sólidos municipais e biosólidos em digestores completamente agitados. Durante o arranque do processo, o digestor foi sujeito a uma sobrecarga orgânica agressiva, verificando-se que o acetato era eventualmente consumido, enquanto o propionato persistia no digestor, verificando-se apenas uma descida da sua concentração associada a uma redução na intensidade da agitação. Concluiu-se também que os digestores sujeitos a uma agitação de baixa intensidade toleravam cargas orgânicas superiores comparativamente a outros com elevada agitação. Vavilin e Angelidaki (2005) testaram o tratamento de resíduos sólidos municipais com estrume de

vaca, concluindo que o fornecimento de cargas orgânicas elevadas associadas a um nível de agitação elevado resultava na acidificação e paragem do processo, e que uma agitação do digestor de baixa intensidade era crucial para o bom funcionamento do processo. Stroot et al. (2001) sugere que a inibição resultante da aplicação de agitação com intensidade elevada estava associada à inibição da oxidação sintrófica de AOV, derivada da disrupção espacial justaposta das bactérias sintróficas e dos seus parceiros metanogénicos.

Assim sendo, para efluentes municipais e de agro-pecuárias, cargas elevadas associadas a níveis de agitação elevados promovem a fase acidogénica em detrimento das fases subsequentes dos reactores anaeróbios.

#### **4.4.5 Nutrientes (*Razão Carbono/Azoto*)**

A concentração de nutrientes presente no digestor tem uma importância crucial no desempenho do processo, uma vez que são essenciais para assegurar o crescimento microbiano e a síntese de enzimas e co-factores indispensáveis (sendo necessário: K, Fe, Ca, Mg) para as reacções bioquímicas e metabólicas. Os nutrientes necessários em maior quantidade (macronutrientes), durante o processo anaeróbio, são o azoto, fósforo e enxofre (Mara e Horan, 2003). As concentrações de carbono e azoto determinam, muitas vezes, o desempenho do processo de digestão anaeróbia (DA), uma vez que um destes elementos constitui normalmente um factor limitante. No processo de DA, o carbono constitui a fonte de energia para os microrganismos, enquanto o azoto é necessário para a síntese de proteínas, estimulando o crescimento microbiano. Se a concentração de azoto for limitante, as populações microbianas permanecem em número reduzido demorando mais tempo a decompor o carbono disponível.

Durante o processo de DA, as bactérias utilizam o carbono disponível no meio cerca de 30 a 35 vezes mais rapidamente comparativamente à taxa com que as bactérias convertem o azoto.

Por esta razão, para a operação óptima do digestor, a razão carbono/azoto presente no inóculo deve ser na ordem de 30:1 (Igoni et al., 2008).

Já o fósforo deverá estar presente numa proporção Carbono/fósforo de 150:1, sendo que o processo anaeróbio não é prejudicado por concentrações elevadas de fósforo, mas sofre inibições na sua ausência (DGE, 2000).

O enxofre é ainda menos importante que o fósforo quando se pretende maximizar a metanogénese, no qual a quantidade deverá ser limitada, para se evitar o desenvolvimento acentuado de bactérias sulfato-redutoras e consequente conversão a sulfureto de hidrogénio (H<sub>2</sub>S) (DGE, 2000). Por outro lado, quando se pretende promover a acidogénese, isto é inibindo as fases subsequentes, a presença de enxofre é benéfica.

Para além destes nutrientes, outros elementos, em quantidades vestigiais, são requeridos para a optimização do crescimento celular, como o ferro, manganésio, molibdénio, zinco, cobre, cobalto, selénio, tungsténio e níquel (Pohland, 1992).

#### **4.4.6 Toxicidade e inibição**

Existem diversos compostos que potencialmente podem ser inibitórios ao processo anaeróbio, como alguns compostos que fazem parte do substrato no afluente, ou sub-produtos resultantes do metabolismo das bactérias. Estes compostos podem abrandar o processo de degradação (toxicidade), ou causar a paragem do processo de metanogénese (inibição metanogénica). Alguns compostos responsáveis por estes fenómenos são amónia, sulfuretos, metais pesados, metais alcalinos e metais alcalino-terrosos (Mara e Horan, 2003).

#### **4.5 A acidificação anaeróbia como pré-tratamento na produção de biopolímeros (polihidroxicanoatos)**

Os polihidroxicanoatos (PHAs) são polímeros de síntese biológica com propriedades semelhantes às dos polímeros convencionais mas com a mais valia de serem biocompatíveis, biodegradáveis e poderem ser produzidos a partir de substratos de carbono renováveis (Bengtsson et al., 2007), ao contrário dos plásticos de síntese química que são produzidos a partir do petróleo.

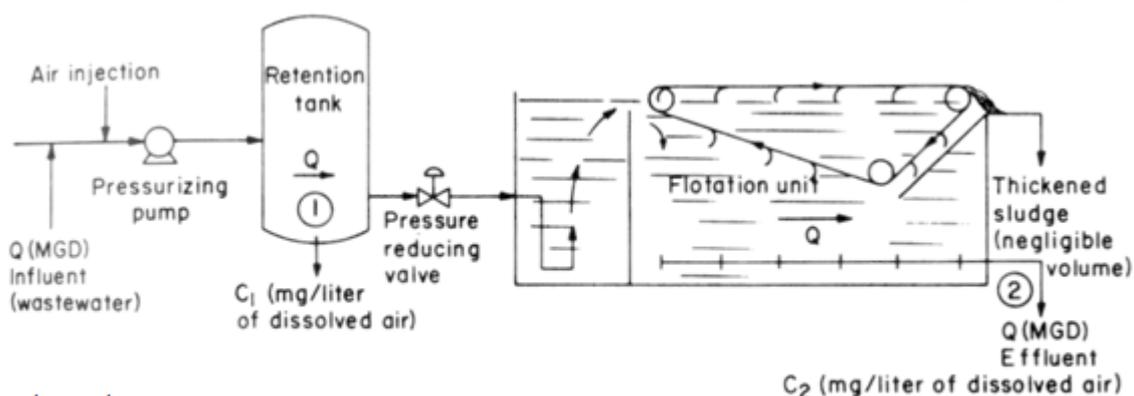
Os PHAs são sintetizados e armazenados, via intra-celular, por bactérias para serem utilizados como fonte de carbono e energia para crescimento e manutenção, quando expostos a ambientes de exaustão de fonte de carbono externa (Dionisi et al., 2005). O custo de produção destes biopolímeros não é competitivo, em muito devido aos custos relacionados com a matéria-prima. Os ácidos orgânicos voláteis são o melhor substrato para a produção biológica de PHAs, pelo que têm sido utilizados na sua forma pura (Choi & Lee, 2000). Contudo, sendo os AOVs um dos produtos resultantes da acidificação anaeróbia de compostos orgânicos, este processo poderá ser utilizado como pré-tratamento para converter compostos orgânicos complexos presentes, por exemplo em efluentes líquidos, para potenciar a produção de PHAs a partir de fontes de carbono renováveis.



## 5. OBJECTIVOS DO TRABALHO

O objectivo geral deste trabalho consiste no aproveitamento e conseqüente valorização de um subproduto da indústria de lacticínios na produção de AOVs, que são o substrato ideal para a posterior produção de biopolímeros e ainda a valorização energética em  $\text{CH}_4$ , nomeadamente a valorização das lamas gordurosas retidas nos sistemas de desengorduramento, as *lamas DAF*.

Os objectivos específicos são a optimização da fermentação acidogénica do substrato "*lamas DAF*", nomeadamente na produção de ácidos orgânicos voláteis (AOVs) específicos, que posteriormente irão ser usados como substrato na síntese de biopolímeros, os polihidroxicanoatos (PHAs).



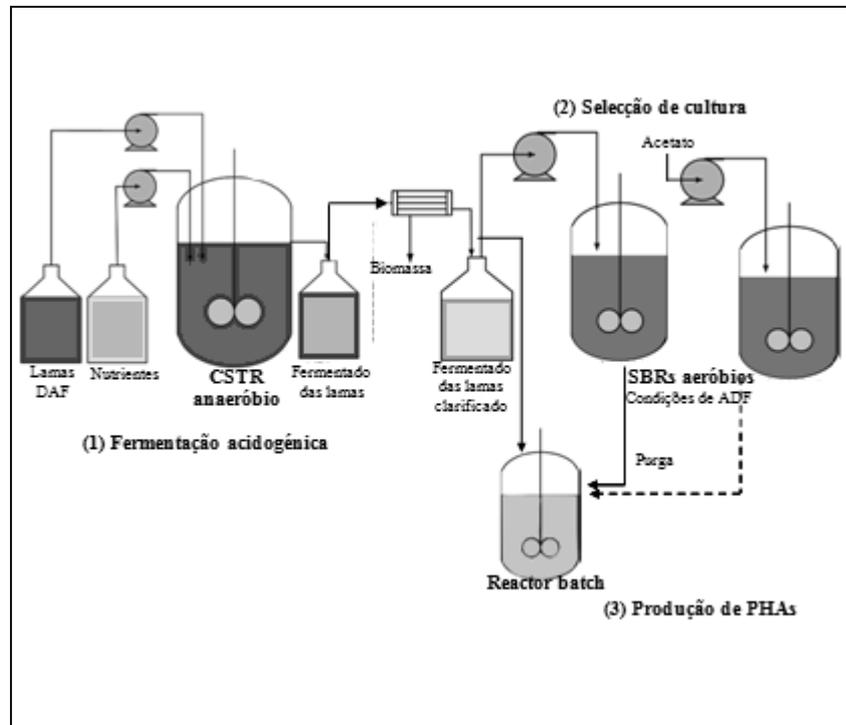
Legenda:

- 1- Bomba de Pressurização;
- 2- Sistema de Injecção de Ar.

**Figura 12** – Sistema típico de separação de óleos e gorduras por injeção de ar pressurizado (Diffuse Air Flottator - DAF).

Para a obtenção dos biopolímeros PHAs a partir de efluentes orgânicos, são realizados ensaios em três fases (Dionisi., et al 2004). Na primeira, 1<sup>a</sup> (primeira), a fermentação acidogénica converte um resíduo concentrado e organicamente assimilável por via microbiológica numa mistura de ácidos carboxílicos, também designados por ácidos orgânicos voláteis (AOVs), os quais são o substrato mais adequado para a bioacumulação de PHAs. Tendo-se verificado que o rendimento de conversão de CQO a AOVs com número de carbonos ímpar conduz à produção de monómeros de hidroxivalerato (HV) (ácido propiónico e ácido valérico) (Bengtsson *et al.*, 2007; Salmiati *et al.*, 2007; A.M. Reis, e tal., 2008), os quais melhoram as propriedades térmicas e mecânicas do copolímero P(HB-HV). A segunda, 2<sup>a</sup>, caracteriza-se pela selecção de uma cultura acumuladora do biopolímero e a terceira, 3<sup>a</sup>, consiste na produção de PHAs usando o fermentado rico em AOVs e a cultura acumuladora do biopolímero, submetendo-a a ciclos de fome e fartura.

Este trabalho incide na optimização da 1<sup>a</sup> fase referida, mais concretamente na fermentação acidogénica de lamas gordas de ETARI de lacticínios em reactores descontínuos (batch) anaeróbios, operados em regime termofílico (55°C +/- 1). O perfil de concentrações de ácidos orgânicos voláteis obtido durante a fase de fermentação é um aspecto crucial do processo, uma vez que as propriedades dos polímeros dependem da sua composição, obtendo-se na 3<sup>a</sup> fase uma maior fracção de HV no co-polímero quanto maior for a fracção de propionato e valerato no fermentado (A.M. Reis, et al., 2008). Nestas condições e variando a carga orgânica aplicada, a alcalinidade impostas inicialmente, o pH e a temperatura, pretende-se obter o máximo rendimento de conversão de carência bioquímica de oxigénio (CQO) aos ácidos gordos voláteis (AOVs) referidos. Por outro lado, pretende-se verificar quais as condições operatórias que favorecem outra forma de valorização das *lamas DAF*, a conversão a CH<sub>4</sub>.



**Figura 13** – Processo típico de produção de PHAs por culturas mistas (mais do que uma estirpe bacteriana), usando quer uma cultura seleccionada com o fermentado de *lamas DAF* (linha a cheio) quer uma cultura seleccionada com acetato (linha a tracejado) (adaptado de A.M. Reis et. al., 2007).



## 6. MATERIAL E MÉTODOS

Para estudar o processo de acidificação como sendo um pré-tratamento para a valorização das lamas DAF geradas nos desgorduradores das indústrias de laticínios, utilizaram-se um conjunto de 8 reactores descontínuos operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , gama de temperatura que, segundo vários autores (Hernández-Uresti et al., 2002; Fukushi et al., 2003; Salsali et al., 2004; Puchajda and Oleszkiewicz, 2004) promove a fase acidogénica, principal objectivo deste trabalho.

De modo a garantir a temperatura de operação dos reactores, durante os ensaios estes foram mantidos submersos num banho de água aquecido por uma bomba termostática (figura 13).

O biogás produzido foi conduzido, por uma tubagem de teflon inserida no topo do reactor, a um borbulhador. Após passar o borbulhador, o gás produzido deslocava um volume de água retido numa ampola, permitindo contabilizar, desta forma, o volume de biogás produzido. A tubagem de saída do biogás possuía um sistema de amostragem logo após a saída do reactor que era constituído por uma derivação em T selada por um septo de borracha, permitindo a recolha, com uma seringa, de amostras para análise de biogás.

As lamas biológicas anaeróbias usadas eram provenientes de um digestor anaeróbio mesofílico com recirculação ( $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ) com um volume útil de  $2580 \text{ m}^3$  integrado na estação de tratamento de águas residuais industriais e domésticas de uma indústria de laticínios da região de Aveiro.

Dado que o trabalho experimental pretendia avaliar o processo de acidificação anaeróbia foi necessário seleccionar um inóculo cuja actividade metanogénica fosse inexistente. Posteriormente, no terceiro ensaio usaram-se ainda medidas de controlo de PH, que foi sistematicamente controlado em valores reduzidos de forma a provocar a inibição das metanogénicas e assim promover etapas precedentes, como a acidogénese.

Os reactores eram de vidro, tinham uma capacidade útil de 5L e foram inoculados com um volume de lamas biológicas adequado de forma a atingir uma concentração de 5 g SSV/L.

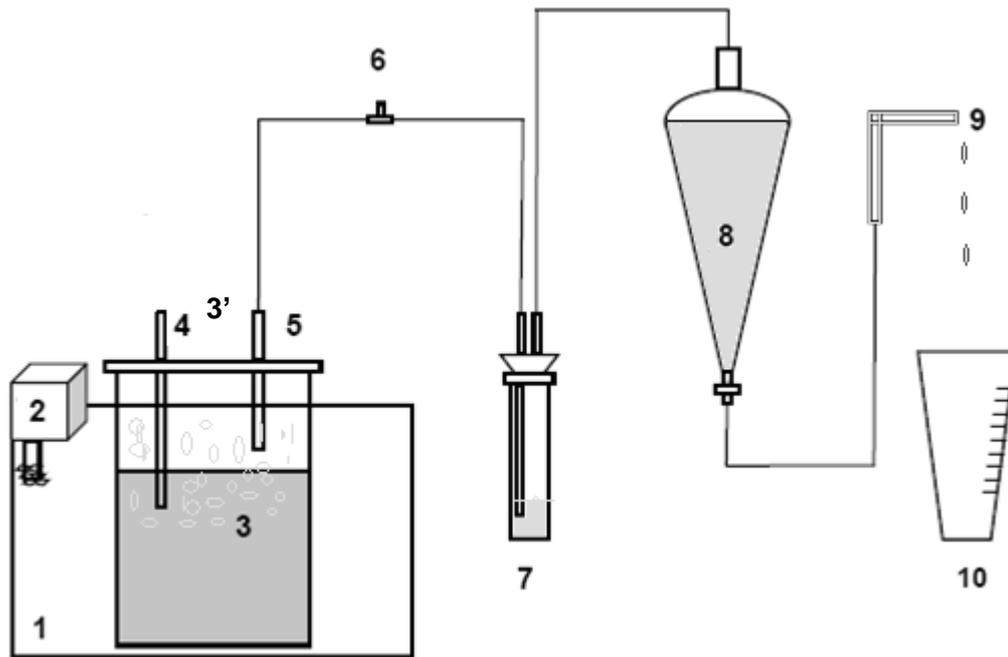
Antes de serem utilizadas na inoculação do reactor nos vários ensaios, as lamas foram crivadas para remoção de sólidos grosseiros (crivos com 3mm de abertura de malha), lavadas com água da rede e sedimentadas durante 24 horas, por acção da gravidade. Posteriormente, foram decantadas. Imediatamente antes de se proceder à sua quantificação, estas foram devidamente homogeneizadas.

A quantificação envolveu à amostragem de 4 amostras compostas<sup>1</sup> em 4 pontos diferentes, cada uma constituída por 3 amostras simples.

---

<sup>1</sup> Mistura de várias amostras simples, de forma manual ou automática, colhidas no mesmo ponto de amostragem durante um período de tempo pré estabelecido, sendo representativa das características médias da origem amostrada durante esse período (*fonte: "Amostragem de águas" – CCDRC*)

## 6.1 Equipamento



### LEGENDA

1 - Banho de água ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ )

2 - Bomba termostática

3 - Reactor acidogénico

3' - Bolhas de biogás

4 - Sistema para retirar amostras do interior do reactor

5 - Saída de biogás

6 - Derivação em T para amostragem de biogás

7 - Borbulhador

8 - Ampola

9 - Tubo de vidro em L

10 - Recipiente para recolha e quantificação do volume de água

**Figura 14** – Esquema da instalação experimental.

## 6.2 Condições operacionais e de monitorização

Os reactores foram operados num total de três ensaios, para um período operacional de, 151, 109 e 35 dias, cada ensaio contemplou 2, 2 e 4 reactores respectivamente (tabela 10).

Estes foram operados, igualmente, como reactores descontínuos na gama termofílica ( $55^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

**Tabela 10** – Plano experimental.

ENSAIOS	Reactor	Tempo operacional [dias]	Lamas biológicas [gSSV/L]	Carga [gCQO/L]	Adição de Alcalinidade	Controlo de PH	Temperatura [�C]
1�	R1	109	5	10	S	N	55 ±1
	R2				N	N	
2�	R1'	151	5	30	S	N	
	R2'				N	N	
3�	R3'	35	5	30	S	4	
	R3			10	N	5	
	R4				S	4	
	R5			N	4		

Na tabela 11, podemos visualizar os ensaios efectuados por *Isidoro, C., 2009*, que, através dos seus resultados, na discussão de resultados, serão comparados em termos de efeitos da temperatura.

**Tabela 11** – Plano experimental de *Isidoro, C., 2009*.

ENSAIOS	Reactor	Tempo operacional [dias]	Lamas biológicas [gSSV/L]	Carga [gCQO/L]	Adição de Alcalinidade	Controlo de PH	Temperatura [°C]	
1º	(R1)	36	36	10	S	N	37 ±1	
	(R2)				N	N		
2º	(R1')	52	52	30	S	N		
	(R2')				N	N		
3º	(R3')	51	51	10	S	N		55 ±1
	(R4')				N	N		
4º	(R3)	52	52	30	S	N		
	(R4)				N	N		

Com estes ensaios, pela tabela 12, pretendeu-se comparar, entre reactores, especificamente o efeito da alcalinidade, da carga orgânica, do pH e da temperatura na distribuição dos produtos resultantes da acidificação, bem como o seu teor de conversão, intercomparando igualmente a eficiência de conversão a metano.

**Tabela 12** – Comparação de resultados entre reactores para os respectivos parâmetros.

<b>Efeito da alcalinidade</b>	R1 x R2
	R1' x R2'
<b>Efeito da carga orgânica</b>	R4 x R5
	R1 x R1' x (R1'')
	R2 x R2' x (R2'')
	R3' x R4
<b>Efeito do pH</b>	R1 x R4
	R2 x R3
	R2 x R5
	R3 x R5
<b>Efeito da temperatura</b>	R1' x R3'
	R1 x (R1)
	R2 x (R2)
	R1' x (R1')
	R2' x (R2')

No arranque dos reactores, para além do volume de inóculo adequado à concentração de biomassa pretendida (5 g SSV L<sup>-1</sup>) foi adicionado o volume de substrato necessário para impor ao sistema cargas iniciais de 10 g CQO L<sup>-1</sup> e 30 g CQO L<sup>-1</sup>, bem como 1 mL de cada solução de nutrientes por litro de volume reaccional (tabela 13 e 14). O restante volume útil do reactor foi perfeito com água da rede municipal e os pH iniciais foram registado. O conteúdo do reactor foi borbilhado com azoto gasoso, durante aproximadamente 3 minutos para impor condições anaeróbias e imediatamente selado com uma tampa de vidro esmerilhada. Nessa tampa estava incorporado o tubo de alimentação de substrato (tubo que se prolonga desde o topo até sensivelmente meio do interior reactor) e o tubo de saída de biogás ligado a um borbilhador de gás com uma altura de líquido com cerca de 2 cm (figura 16).

**Tabela 13** – Composição das soluções de macronutrientes adicionados a cada reactor.

<b><i>Solução de Macronutrientes I</i></b>	
<b>Composto</b>	<b>Concentração (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
<b>NH<sub>4</sub>Cl</b>	170
<b>KH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub></b>	37

<b><i>Solução de Macronutrientes II</i></b>	
<b>Composto</b>	<b>Concentração (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
<b>CaCl<sub>2</sub> . 2H<sub>2</sub>O</b>	8
<b>MgSO<sub>4</sub> . 4H<sub>2</sub>O</b>	9

**Tabela 14** – Composição da solução de micronutrientes adicionados a cada reactor.

<b><i>Solução de Micronutrientes</i></b>	
<b>Composto</b>	<b>Concentração (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
<b>FeCl<sub>3</sub> . 6H<sub>2</sub>O</b>	2454
<b>CoCl<sub>2</sub> . 6H<sub>2</sub>O</b>	2000
<b>MnCl<sub>2</sub> . 4H<sub>2</sub>O</b>	500
<b>CuCl<sub>2</sub> . 4H<sub>2</sub>O</b>	30
<b>ZnCl<sub>2</sub></b>	50
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	50
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> . 4H<sub>2</sub>O</b>	90
<b>EDTA</b>	1000
<b>NiCl<sub>2</sub> . 6H<sub>2</sub>O</b>	50

A monitorização em cada reactor ao longo do processo da digestão anaeróbia foi realizada, na generalidade do tempo, de dois em dois dias, tendo sido avaliados os seguintes parâmetros:

**Tabela 15** – Plano de monitorização do cada reactor.

<b>Parâmetros</b>	<b>Periodicidade de amostragem</b>		<b>Ponto de amostragem</b>
<b>AOVs</b>	Início	1 vez por dia	Após homogeneização, a todo o conteúdo do reactor
<b>Sólidos</b>	Início	1 vez por ensaio	Após homogeneização, a todo o conteúdo do reactor
	Fim		
<b>PH</b>	Início	1 vez por dia	Após homogeneização, a todo o conteúdo do reactor
	Durante		
	Fim		
<b>Biogás</b>	Início	Variável (1 a 3 vezes por dia)	Linha de biogás (saída do reactor)
	Durante		
	Fim		
<b>CQO total</b>	Início	1 vez por ensaio	Após homogeneização, a todo o conteúdo do reactor
	Fim		
<b>CQO solúvel</b>	Início	1 vez por ensaio	Após homogeneização, a todo o conteúdo do reactor
	Fim		

## 6.3 Metodologia Analítica

### 6.3.1 Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs)

A determinação dos AOVs presentes nos reactores em estudo foi realizada após filtração por vácuo (filtros Reeve Angels 403).

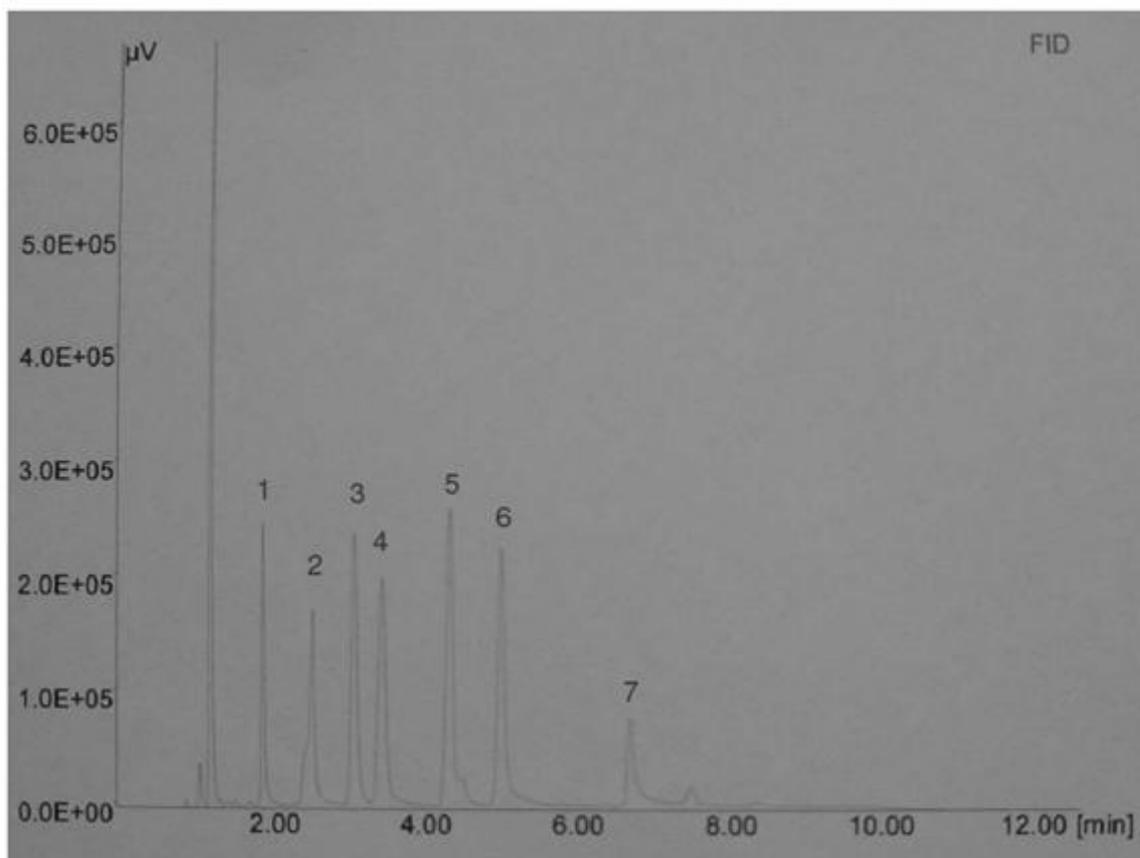
As amostras destinadas à quantificação de AOVs foram filtradas, posteriormente procedeu-se à pipetagem de 5mL do filtrado para frascos de polietileno e de seguida foram acidificadas com 1,5mL de ácido fórmico, na proporção de 1:10 (v/v) e refrigeradas a 4°C, até posterior análise. A composição e concentração de sete ácidos orgânicos voláteis (acético, propiónico, isobutírico, n-butírico, isovalérico, n-valérico e n-capróico) foram determinadas por cromatografia gás-líquido.

Utilizou-se um cromatógrafo com detector de ionização de chama (FID), marca Chrompack, modelo CP9001 com as condições de operação apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 – Condições de operação do cromatógrafo gás-líquido para determinação de AOVs.

<b>Tipo e caudal de gases</b>	Hélio (gás de arraste); Q=8 mL min <sup>-1</sup>
	Azoto (gás de make-up); Q=30mL min <sup>-1</sup>
	Hidrogénio (gás para chama); Q=30 mL min <sup>-1</sup>
	Ar (gás para chama); Q=300 mL min <sup>-1</sup>
<b>Características da coluna</b>	Coluna Chrompack CO-sil5 CB (25m x0,53 mm x 5 µm)
<b>Temperaturas</b>	Detector: 300°C; Injector: 270°C; Coluna: 290°C; Forno:70°C.
<b>Programa de temperaturas</b>	70°C (1min); rampa de 20°C min <sup>-1</sup> ; 100°C (1,5 min); rampa de 10°C min <sup>-1</sup> ; 140°C (2 min)
<b>Volume de amostra</b>	0,5 µL
<b>Software de integração</b>	Jasco-Borwin (1998), versão 1.50

A figura apresenta um cromatograma típico obtido para as condições de funcionamento do cromatógrafo.



**Figura 15** – Cromatograma obtido na análise de ácidos voláteis. 1 - ácido acético; 2 - ácido propiónico; 3 - ácido isobutírico; 4 - ácido nbutírico; 5 - ácido isovalérico; 6 - ácido n-valérico; 7 - ácido n-capróico.

A recta de calibração do aparelho (relação entre a área de cada pico do cromatograma e a concentração de AOV correspondente) foi efectuada com padrões mistos de concentração conhecida, preparados por diluição a partir de uma solução única. A cada padrão foi adicionado ácido fórmico na proporção de 1:10 (v/v), para que a matriz dos padrões fosse, tanto quanto possível, idêntica à matriz das amostras. Assim, é estabelecida uma relação entre a área de cada pico do cromatograma e a concentração de AOV correspondente, permitindo a sua quantificação.

As expressões das rectas de calibração dos AOVs, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), o intervalo dos tempos de retenção admissíveis e os respectivos limites de detecção (LD) são dados na tabela seguinte:

**Tabela 17** – Rectas de calibração para posterior determinação da concentração de cada AOV.

Ácido orgânico volátil	Fórmula química	Massa molar (g/mol)	Tempo de retenção (min)		Recta de calibração		LD ácido i (mg/L)
			Máximo	Mínimo	Equação	$R^2$	
<b>Acético</b>	$C_2H_4O_2$	60	3,150	3,125	Área = 1262,9 x Concentração	0,9999	3,743
<b>Propiónico</b>	$C_3H_6O_2$	74	4,002	3,925	Área = 1967,1 x Concentração	0,9988	4,974
<b>Isobutírico</b>	$C_4H_8O_2$	88	4,899	4,833	Área = 2510,5 x Concentração	0,9994	1,888
<b>n-butírico</b>	$C_4H_8O_2$	88	5,358	5,267	Área = 3943,2 x Concentração	0,998	3,987
<b>isovalérico</b>	$C_5H_{10}O_2$	102	6,358	6,133	Área = 2727,8 x Concentração	0,9998	23,414
<b>n-valérico</b>	$C_5H_{10}O_2$	102	7,085	7,008	Área = 2678,7 x Concentração	0,9996	8,744
<b>n-capróico</b>	$C_6H_{10}O_2$	114	8,933	8,925	Área = 2663,2 x Concentração	0,9993	9,207

A apresentação das concentrações de AOVs foi realizada após conversão de cada ácido em ácido acético (mg AAc.L<sup>-1</sup>) através da seguinte fórmula,

$$C_{\text{ácido}} (\text{mgAc.L}^{-1}) = \frac{C_{\text{ácido}} (\text{mg}_{\text{ácido}}.\text{L}^{-1}) \times M_{\text{ácido acético}} (\text{g.mol}^{-1})}{M_{\text{ácido}} (\text{g.mol}^{-1})}$$

### 6.3.2 Sólidos

Para a quantificação dos sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV), foi utilizado o método 2540 B e E respectivamente (APHA; 1998). Previamente os filtros foram calcinados (filtros Reeve Angels 403), determinando-se posteriormente a tara ( $m_{\text{cadinho} + \text{filtro}}$ ) (balança Precisa XB 120A: Max. 120g; min. 0,01g, desvio padrão=0,0001g; erro padrão=0,001g).

Na determinação do teor de SST, correspondente à componente orgânica e inorgânica do efluente, procedeu-se à amostragem de volume conhecido de amostra, que foi filtrada com papel de filtro (marca Reeve Angel, grade 403 e poro  $\varnothing = 0,45 \mu\text{m}$ ) e posterior secagem na estufa a  $105^\circ\text{C}$ .

Posteriormente, a fracção volátil do teor dos SST, os sólidos suspensos voláteis (SSV), correspondente à componente orgânica, foi determinada por calcinação a  $550^\circ\text{C}$ .

Todas as amostras foram sempre realizadas em triplicado por reactor.

Usaram-se as seguintes fórmulas na quantificação dos SST e dos SSV:

$$SST (mg.L^{-1}) = \frac{m_{\text{cadinho+ filtro+ amostra seca}} (mg) - m_{\text{cadinho+ filtro}} (mg)}{V_{\text{amostra}} (L)}$$

$$SSV (mg.L^{-1}) = \frac{m_{\text{cadinho+ filtro+ amostra calcinada}} (mg) - m_{\text{cadinho+ filtro+ amostra seca}} (mg)}{V_{\text{amostra}} (L)}$$

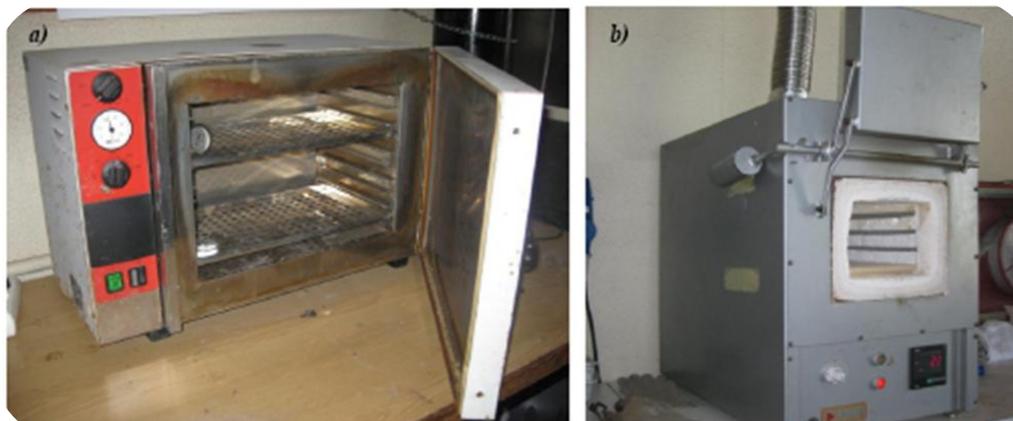


Figura 16 – Aparelhos típicos utilizados na quantificação de sólidos, a) Estufa, b) Mufla

### **6.3.3 PH**

O pH foi determinado em 25 ml de amostra agitada mecanicamente. Usou-se um eléctrodo de pH (Consort C-515) calibrado semanalmente com soluções tampão comerciais de pH=4 e pH=7 (Panreac).

### **6.3.4 Alcalinidade**

A alcalinidade é considerada em soluções que compreendem a gama de pH 6 a 10 como uma medida da concentração de bicarbonato. Por esta razão, a sua determinação consiste numa titulação com uma solução ácida até ser atingido o pH=4,5 (Neal, 2001).

Neste estudo determinou-se a alcalinidade pelo método potenciométrico (método 2320 descrito em APHA, 1998). Por fim, utilizou-se a seguinte fórmula para calcular a alcalinidade da amostra como mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ .

$$\text{Alcalinidade}(\text{mgCaCO}_3, \text{L}^{-1}) = \frac{V_{\text{HCl}}(\text{ml}) \times C_{\text{HCl}}(\text{mol.L}^{-1}) \times M_{\text{CaCO}_3}(\text{g.mol}^{-1})}{V_{\text{amostra}}(\text{ml}) \times 10^{-3}}$$

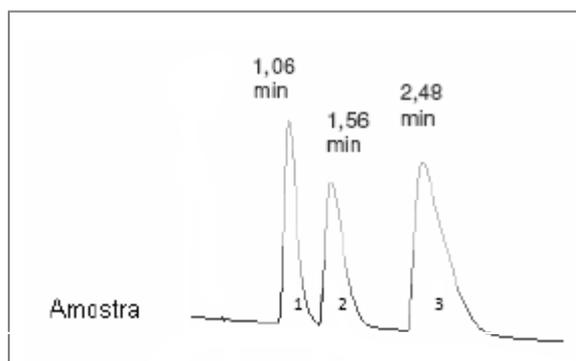
### **6.3.5 Composição do biogás**

A determinação da composição do biogás, isto é, a % de metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), foi realizada por cromatografia gasosa usando o cromatógrafo de gás SRI 8610C equipado com um detector de condutividade térmica (Thermal Conductivity Detector, TCD) nas condições apresentadas na Tabela 18.

**Tabela 18** – Condições de operação do cromatógrafo gasoso para determinação da composição de biogás.

<b>Tipo e caudal de gases</b>	Hélio (gás de arraste); Q=10 mL min <sup>-1</sup>
<b>Características da coluna</b>	Coluna Stainless Steel Packed Column, Haysep Q. Dimensões: 2,5m x 2,1mm I.D.
<b>Temperaturas</b>	60 °C
<b>Tempo de corrida</b>	10 min
<b>Volume de amostra</b>	1 mL
<b>Software de Integração</b>	Peak Simple (2004), versão 3.29

A figura 16 apresenta um cromatograma uma amostra, obtidos para as condições de funcionamento do cromatógrafo. Na qual se identifica, 1 – outros compostos (N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, etc.), 2 – metano (CH<sub>4</sub>), 3 – dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

**Figura 17** - Cromatograma obtido na análise da composição de biogás. 1 - outros componentes gasosos; 2 - CH<sub>4</sub>; 3 - CO<sub>2</sub>.

A calibração do aparelho foi realizada com padrões gasosos de composição conhecida (100% CO<sub>2</sub> e 100% CH<sub>4</sub>) e validada usando um padrão misto com uma mistura gasosa de 70% CH<sub>4</sub> e 30% CO<sub>2</sub>.

A conversão da área de cada pico do cromatograma em % de composição do biogás foi realizada tendo em conta as relações obtidas na calibração, presentes na figura 17.

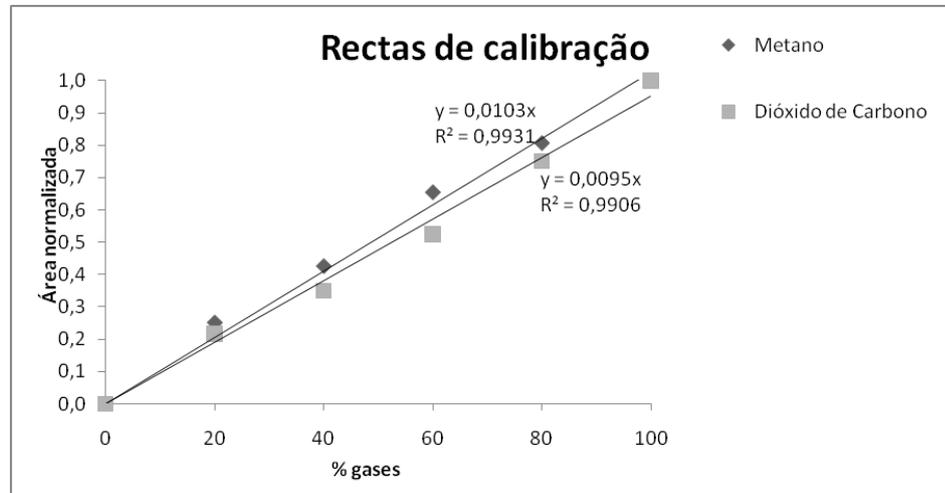


Figura 18 – Rectas de calibração para posterior determinação da percentagem (%) de cada composto.

A presença de outros compostos no biogás ( $N_2$ ,  $H_2$ ,  $H_2S$ , etc.) foi estimada de acordo com a expressão seguinte:

$$\% \text{ Outros compostos} = 100\% - (\%CH_4 + \%CO_2)$$

### **6.3.6 Carência Química de Oxigénio (CQO)**

A Carência Química de Oxigénio (CQO) permite quantificar a quantidade de oxidante químico necessário para reagir, em condições controladas, com a fracção orgânica e inorgânica da amostra, passível de ser oxidada por via química. A quantidade de oxidante gasto durante a reacção de oxidação é expressa em termos de oxigénio.

Neste trabalho, para quantificar a CQO das amostras analisadas utilizou-se o método do refluxo fechado com determinação espectrofotométrica (método 5520 D descrito em APHAS (1998)). Neste método analítico, a amostra é oxidada com uma quantidade em excesso de dicromato de potássio (oxidante químico em excesso), em condições ácidas. Este método apresenta uma gama de medição até 900 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, pelo que amostras que apresentaram teores de CQO mais elevados precisaram de ser diluídas, antes de analisadas.

Após o arrefecimento das amostras digeridas, até à temperatura ambiente, foram medidas as suas absorvâncias, a um comprimento de onda de  $\lambda = 600$  nm utilizando um espectrofotómetro (marca Aqualytic, modelo PC023212), que converte as absorvâncias das amostras em concentração (mgO<sub>2</sub>/L).

Quando se pretendeu determinar a carência química de oxigénio total (CQO total) procedeu-se à extracção de uma amostra devidamente agitada e homogeneizada. Relativamente a fracção filtrada (CQO solúvel), procedeu-se de igual forma, mas efectuou-se previamente a sua filtração com papel de filtro (marca Reeve Angel; grade 403,  $\varnothing=0,45\mu\text{m}$ ).



## **7. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No decorrer deste trabalho foi estudada a influência de variáveis tais como, o efeito da alcalinidade, da carga orgânica, do pH e da temperatura (comparando com os dados de trabalho antecedente de *Isidoro, C., 2009*) na distribuição dos produtos resultantes da acidificação, bem como o seu teor de conversão, intercomparando igualmente a eficiência de conversão a metano.

Ao longo de cada ensaio foi possível avaliar o comportamento dos reactores tendo em conta a sua evolução ao longo do tempo. O final de cada ensaio é identificado através da estabilização da curva de biogás, indicando a finalização da sua produção.

### ***7.1 Resultados experimentais***

Como referido anteriormente, com estes ensaios, pela tabela 19, pretendeu-se comparar entre reactores, o efeito da alcalinidade, da carga orgânica, do pH e da temperatura na distribuição dos produtos resultantes da acidificação, bem como o seu teor de conversão, intercomparando igualmente a eficiência de conversão a metano. Na tabela 20, encontra-se a legendagem de todos os reactores e respectivas condições de operação abordados neste trabalho, agrupados nos 3 ensaios efectuados.

**Tabela 19** – Comparação de resultados entre reactores para os respectivos parâmetros.

<b>Efeito da alcalinidade</b>	<b>R1 x R2</b>
	(R1)* x (R2)*
	R1' x R2'
	(R1') x (R2')
	(R1'') x (R2'')
<b>Efeito da carga orgânica</b>	R4 x R5
	R1 x R1' x (R1'')
	R2 x R2' x (R2'')
<b>Efeito do pH</b>	R3' x R4
	R1 x R4
	R2 x R3
	R2 x R5
	R3 x R5
<b>Efeito da temperatura</b>	R1' x R3'
	R1 x (R1)*
	R2 x (R2)*
	R1' x (R1')*
	R2' x (R2')*

**Legenda:** \* Reactores operados em trabalho anterior por Isidoro, C., 2009.

**Tabela 20** – Legendagem dos reactores operados nos respectivos ensaios.

<b>1º Ensaio</b>	<b>2º Ensaio</b>	<b>3º Ensaio</b>
R1 - 10 g CQO/L, 55 ±1°C, com alcalinidade	R1' - 30 g CQO/L, 55±1°C, com alcalinidade	R3 - 10 g CQO/L, 55±1°C, sem alcalinidade, pH≈5
R2 - 10 g CQO/L, 55 ±1°C, sem alcalinidade	R2' - 30 g CQO/L, 55±1°C, sem alcalinidade	R4 - 10 g CQO/L, 55±1°C, com alcalinidade, pH≈4
(R1)* - 10 g CQO/L, 37 ±1°C, com alcalinidade	(R1')* - 30 g CQO/L, 37 ±1°C, com alcalinidade	R5 - 10 g CQO/L, 55±1°C, sem alcalinidade, pH≈4
(R2)* - 10 g CQO/L, 37 ±1°C, sem alcalinidade	(R2')* - 30 g CQO/L, 37 ±1°C, sem alcalinidade	R3' - 30 g CQO/L, 55±1°C, com alcalinidade, pH≈4
	(R1'')* - 30 g CQO/L, 55 ±1°C, com alcalinidade	
	(R2'')* - 30 g CQO/L, 55 ±1°C, sem alcalinidade	

**Legenda:** \* Reactores operados em trabalho anterior por Isidoro, C., 2009.

### **7.1.1 1º Ensaio**

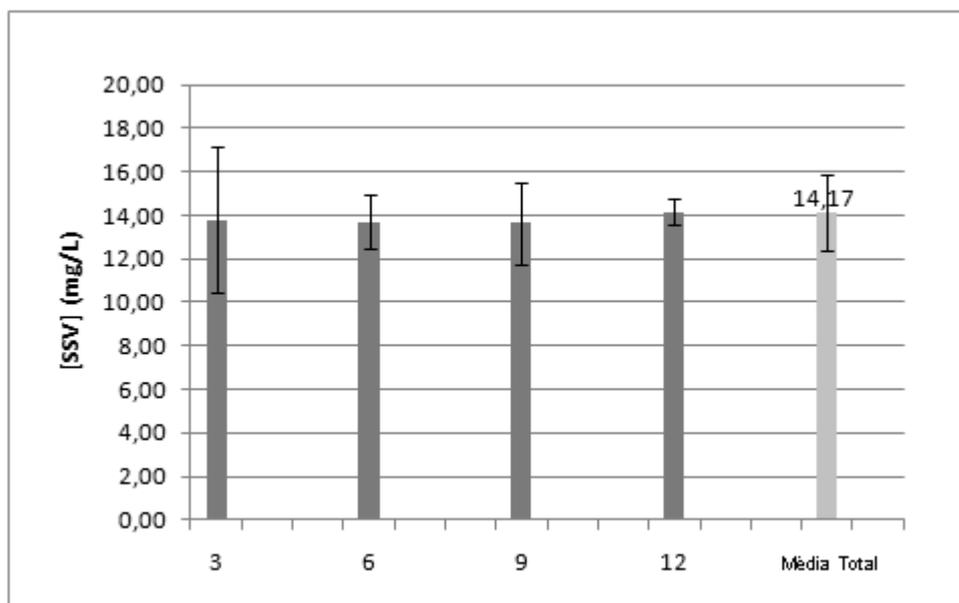
O objectivo deste ensaio foi comparar o efeito da alcalinidade em reactores operados à mesma carga orgânica (10 gCQO/L) e temperatura ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Por outro lado, comparando com os ensaios elaborados por *Isidoro C., 2009*, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  é possível confrontar os resultados tendo em conta o efeito da temperatura.

Como já referido, neste e nos restantes ensaios foi usado um volume adequado de lamas biológicas de forma a igualar, em termos mássicos, a concentração desejada de 5 g SSV/L. Para tal, procedeu-se à amostragem de 4 amostras compostas em 4 pontos diferentes, cada uma constituída por 3 amostras simples, determinando-se a média e desvio padrão, e respectiva quantificação do volume de lamas biológicas (figura 19). De notar que as médias de cada ponto de amostragem são semelhantes, pelo que se deduz que a homogeneização foi previa e devidamente efectuada.

As características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas são apresentadas na tabela 19. As condições operacionais aplicadas a ambos os reactores encontram-se na tabela 20.

**Tabela 21** - Características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas nos ensaios (valores médios  $\pm$  desvio padrão).

Parâmetro	Lamas DAF				Lamas Biológicas	
	CQOt [g/L]	CQOs [g/L]	Sólidos [gSSV/L]	Alcalinidade [mgCaCO <sub>3</sub> /L]	PH [-]	Sólidos [gSSV/L]
	243,83 $\pm$ 8,06	14,05 $\pm$ 0,74	120,05 $\pm$ 7,99	6791,67 $\pm$ 41,67	5,65 $\pm$ 0,02	14,17 $\pm$ 1,75



**Figura 19** - Desvios padrões das médias de cada amostra composta e da média total à concentração dos SSV.

**Tabela 22** - Parâmetros operacionais aplicados no ensaio para os reactores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade).

Reactor	Carga	Lamas DAF	Lamas Biológicas	Lamas Biológicas	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQOt /L]	[mL]	[gSSV/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> ]	[gKHCO <sub>3</sub> ]	[mL]	[min]
R1	10	205	5	1765	5	5	15	3
R2	10	205	5	1765	-	-	15	3

Os resultados experimentais de ambos os reactores relativamente à produção de metano e sua evolução temporal, são apresentados de seguida.

## Produção de metano

O volume de biogás foi contabilizado através do sistema anteriormente descrito, onde a água contida numa ampola é deslocada pelo gás produzido após a passagem deste por um borbulhador. A percentagem (%) de CH<sub>4</sub> é obtida pela leitura no cromatógrafo gasoso e depois convertida em metano produzido.

Neste ensaio, a quantidade de metano produzida representada no gráfico da figura 20.

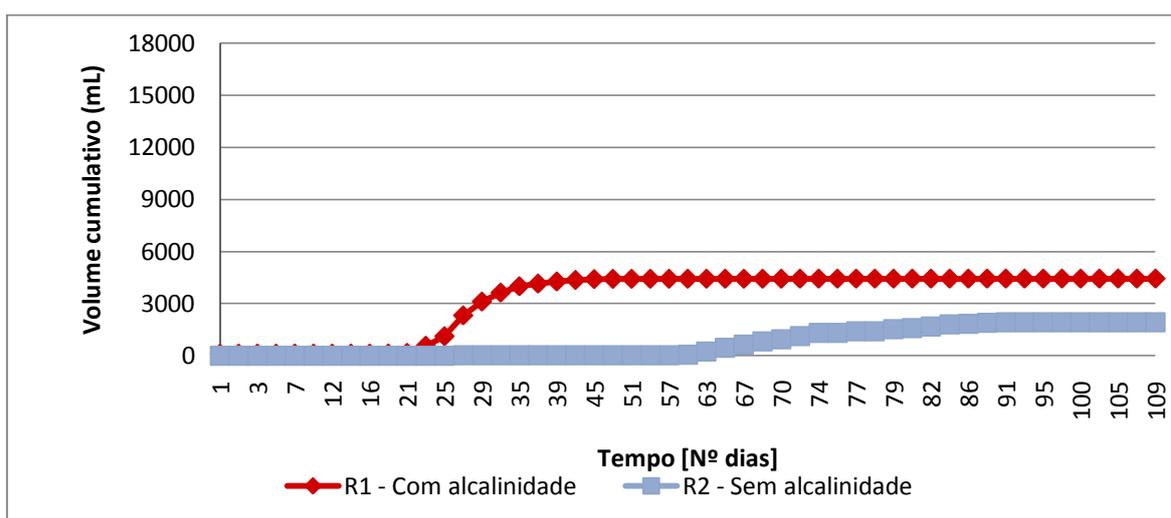
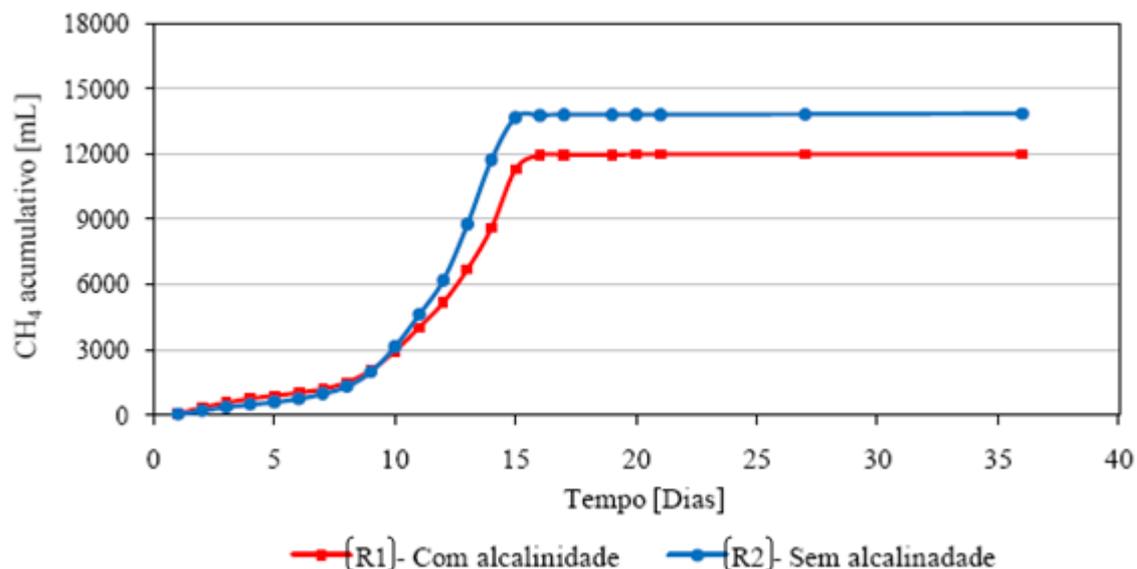


Figura 20 - Produção cumulativa de metano para os reatores R1 (com alcalinidade) e reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10 gCQO/L e T=55 ±1°C.

Da observação deste, verifica-se que a 55 ±1°C e a 10 g CQO/L, a produção de metano ao longo de todo o ensaio é superior no reactor R1 - (com alcalinidade), evidenciando-se claramente ao longo do ensaio. Verifica-se ainda que o reactor R1 (com alcalinidade) apresenta produção de metano, tendo produzido 4,4L de metano até ao momento em que o ensaio foi parado. O reactor R2 (sem alcalinidade) apresentou uma produção de 1,9L.

Observa-se ainda que, a *fase lag*, isto é, a fase de adaptação dos microorganismos ao substrato compreenderam aproximadamente 21 dias para R1 - (com alcalinidade) e 57 dias para R2 (sem alcalinidade), podendo inferir que a capacidade tampão proporcionada pela adição de alcalinidade ao reactor, promove a metanização.

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 21:



**Figura 21** - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 (com alcalinidade) e R2 (sem alcalinidade) para uma carga de  $10\text{gCQO/L}$  e  $T=37^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

- Consta-se claramente que os reatores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  têm, em termos grosseiros, mais 300% de produtividade de metano que os reatores operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . Com o reactor R2 (sem alcalinidade), a produzir cerca de 13851 mL de metano enquanto o reactor R1 (com alcalinidade) produziu 11969 mL.
- Consta-se ainda que nas mesmas condições operacionais, nos reatores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , a *fase lag* é menos pronunciada, verificando-se logo nos primeiros dias actividade metanogénica. Este facto pode ser justificado pelo facto de as lamas biológicas utilizadas nestes trabalhos serem provenientes de um reactor operado na gama mesofílica ( $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ), pelo que adaptaram-se rapidamente aos reatores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e pelo contrário, a fase de adaptação metabólica prolongou-se nos reatores operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . Por outro lado, as lamas biológicas utilizadas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (Isidoro C., 2009) já tinham sofrido uma adaptação prévia ao substrato, a cargas mais baixas.

### **Evolução dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs)**

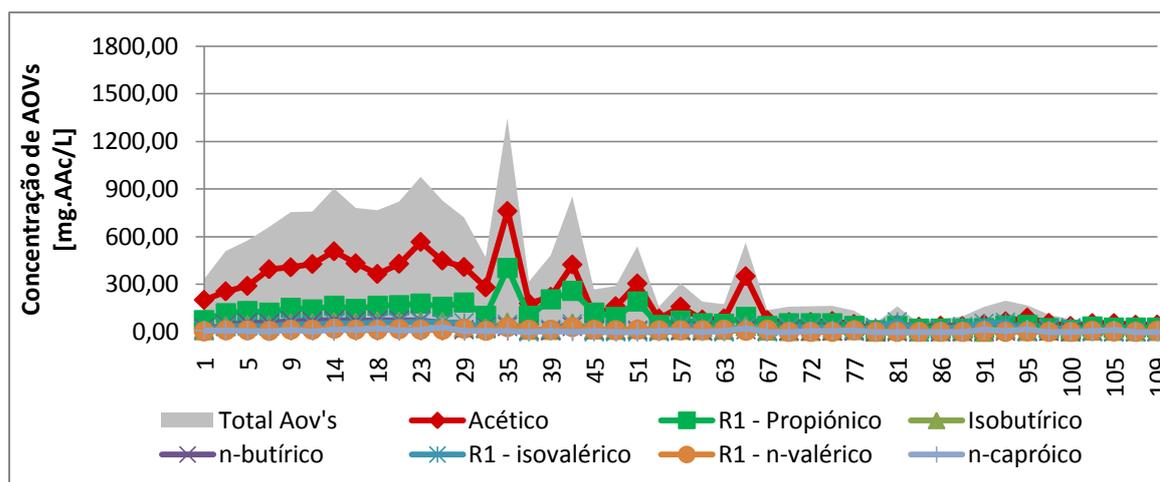


Figura 22 - Concentração de AOVs no reactor R1 (com alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e  $T=55 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R1 (com alcalinidade) foram detectados alguns AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico. O ácido propiónico é identificado em menores concentrações, geralmente inferiores a 400 mgAAc/L. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 1344,68 mgAAc/L no 35º dia, coincidindo com as concentrações máximas dos ácidos acético e propiónico, com 761,90 mgAAc/L e 402,96 mgAAc/L, respectivamente.

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 23:

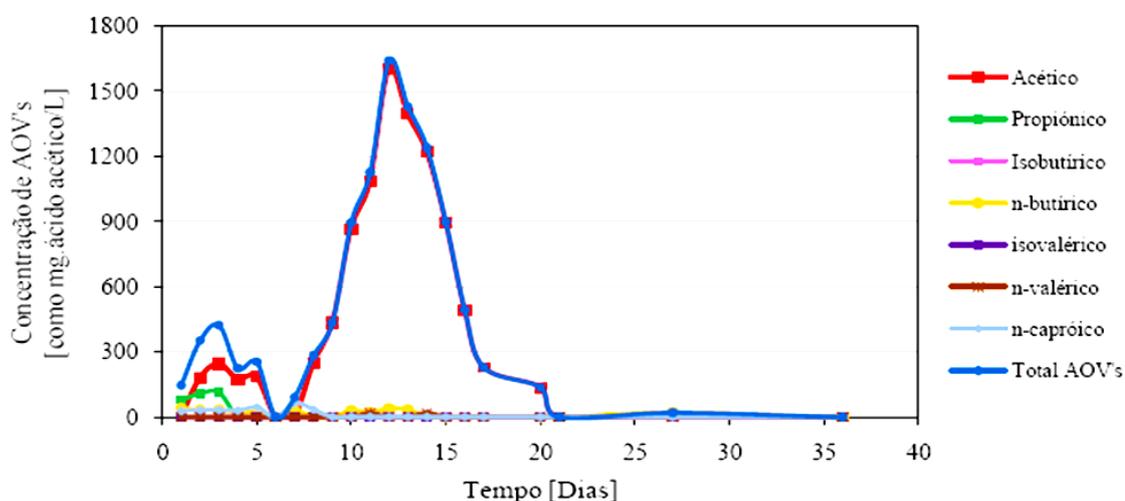


Figura 23 - Concentração de AOVs no reactor (R1) - com alcalinidade, para uma carga de 10gCQO/L e  $T=37^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

- Constata-se que atinge-se maiores concentrações em ácido propiónico para o reactor operado a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  (figura 22), para o mesmo período de operação (aproximadamente 36 dias). Tal facto está de acordo com a literatura, a qual descreve que na gama termofílica a produção do AOV ácido propiónico é favorecida, o qual é o AOV mais lentamente convertido a metano (Yu et al., 2002b);
- E, em oposto, observam-se menores concentrações de Total AOVs, com o máximo de 1344,68 mgAAc/L ao 35º dia no reactor operado a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , atingindo-se o máximo de 1640 mgAAc/L no 12º dia no reactor operado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , com uma grande contribuição do ácido acético (figura 23).
- Pelo exposto no ponto anterior, verifica-se que o reactor operado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  atinge a concentração máxima em menor período de tempo, podendo-se justificar pelo facto, referido imediatamente atrás, de a fase lag ser menos pronunciada.

De seguida, no gráfico da figura 24 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs) correspondentes ao reactor R2.

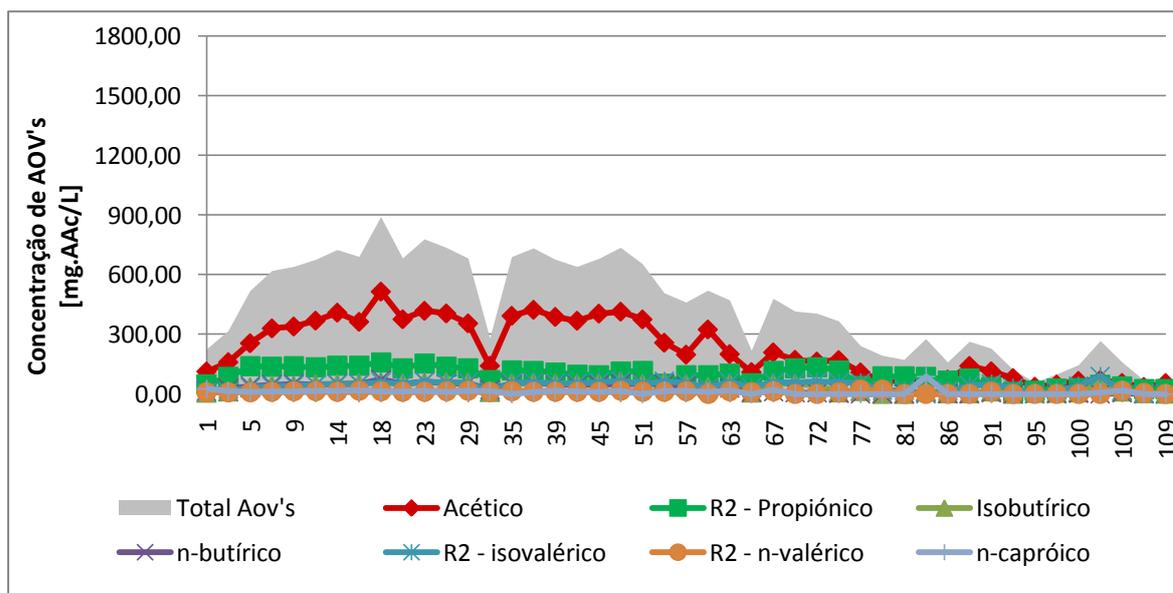
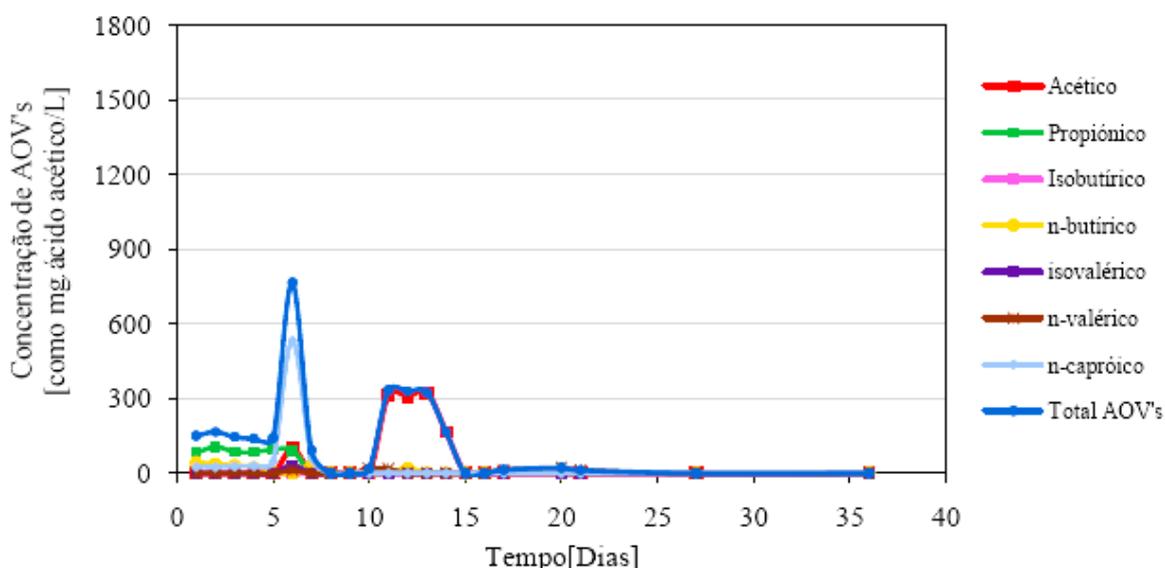


Figura 24 - Concentração de AOVs no reactor R2 (sem alcalinidade) para uma carga de 10gCQO/L e  $T=55 \pm 1^\circ\text{C}$

Através da observação do gráfico verifica-se, igualmente, que no reactor R2 (sem alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico. O ácido propiónico é identificado em menores concentrações, sempre inferiores a 160 mgAAc/L. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 890,90 mgAAc/L também no 18º dia, coincidindo igualmente, com as concentrações máximas dos ácidos acético e propiónico, com 514,78 mgAAc/L e 158,89 mgAAc/L, respectivamente.

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 25:



**Figura 25** - Concentração de AOVs no reactor (R2) - sem alcalinidade, para uma carga de 10gCQO/L e  $T=37^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

- Constata-se que atinge-se maiores concentrações em ácido propiónico e ácido acético para o reactor operado a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  (figura 24), para o mesmo período de operação (aproximadamente 36 dias). E, igualmente, observam-se maiores concentrações de Total AOVs, com uma grande contribuição do ácido acético, atingindo-se o máximo de 890,90 mgAAc/L no 18º dia, em comparação com os 766 mgAAc/L atingido ao 5º dia no reactor operado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (figura 28).

- Em suma, pela tabela 22 e pelas figuras 22, 23, 24 e 25, comparando estes 4 reactores, destaca-se a contribuição da alcalinidade com valores, da generalidade dos AOVs, sempre superiores aos reactores operados sem alcalinidade ao longo do mesmo período operacional (36 dias). De igual forma, comparando R1 x R2, há maior produção de metano no reactor R1 - com alcalinidade, contudo este facto é contrário quando comparados os reactores (R1) x (R2), com maior produção de metano para o reactor R2 - sem alcalinidade. Em relação ao parâmetro temperatura para os reactores operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , o perfil ao longo dos ensaios, bem como as concentrações máximas de total AOVs e de ácido propiónico evidenciam-se sempre superiores à dos reactores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Exceptua-se a concentração máxima de total AOVs de (R1), com 1700 mg Aac/L, contudo o perfil dos AOVs ao longo de todo o ensaio apresenta concentrações inferiores em relação a R1. Por fim, a temperatura termofílica promove igualmente o ácido propiónico.

Tabela 23 – Resumo dos resultados obtidos no 1º ensaio.

	Parâmetro comparativo	CH <sub>4</sub> (L)	Máximo - Total AOVs (mg Aac/L)	Máximo - Apr (mg Aac/L)
R1 x R2	Alcalinidade	4,4 x 1,9	1345 x 890	400 x 160
(R1) x (R2)	Alcalinidade	11,9 x 13,8	1700 x 850	200 x 160
R1 x (R1)	Temperatura	4,4 x 11,9	1345 x 1700	400 x 200
R2 x (R2)	Temperatura	1,9 x 13,8	890 x 850	160 x 140

*Legenda:* R1 - 10 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade; R2 - 10 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade;  
(R1) - 10 g CQO/L,  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade; (R2) - 10 g CQO/L,  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade.

### 7.1.2 2º Ensaio

De igual forma, o objectivo deste ensaio foi comparar o efeito da alcalinidade em reactores operados à mesma carga orgânica, a 30 gCQO/L, e temperatura ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Por outro lado, comparando com os ensaios elaborados por *Isidoro C., 2009*, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  é possível confrontar os resultados tendo em conta o efeito da temperatura.

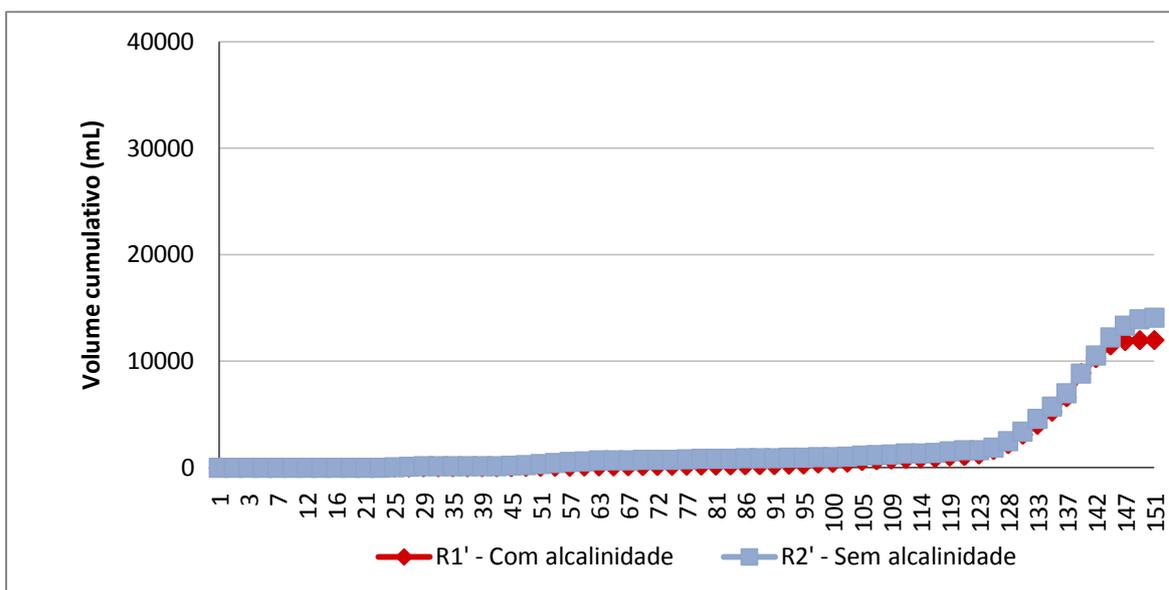
As lamas biológicas e as lamas DAF são utilizadas nas mesmas condições que no 1º ensaio, cujas características encontram-se igualmente apresentadas na tabela 20. As condições operacionais deste ensaio estão presentes na tabela 23.

**Tabela 24** - Parâmetros operacionais aplicados nos ensaios para os reactores R1' (com alcalinidade e R2' (sem alcalinidade).

Reactor	Carga	Lamas DAF	Lamas Biológicas	Lamas Biológicas	Alcalinidade		Nutrientes	Azoto
	[gCQO/L]	[mL]	[gSSV/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> ]	[gKHCO <sub>3</sub> ]	[mL]	[min]
R1'	30	615	5	1765	5	5	15	3
R2'	30	615	5	1765	-	-	15	3

Os resultados experimentais de ambos os reactores relativamente à produção de metano e sua evolução temporal, são apresentados de seguida.

### **Produção de metano**

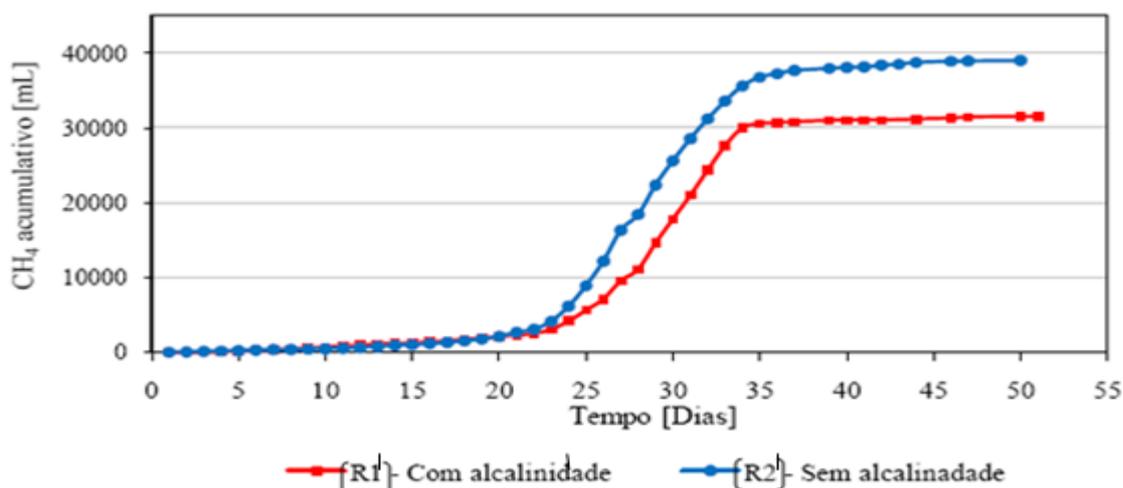


**Figura 26** - Produção acumulada de metano para os reactores R1' (com alcalinidade) e R2' (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=955 ±1°C.

Da observação do gráfico da figura 26 verifica-se que a produção de metano ao longo de todo o ensaio é superior no reactor R2' - (sem alcalinidade), aproximando-se no final do ensaio. Verifica-se ainda que o reactor R1' (com alcalinidade) apresenta produção de metano, tendo produzido 11,9L de metano até ao momento em que o ensaio foi terminado. O reactor R2 (sem alcalinidade)

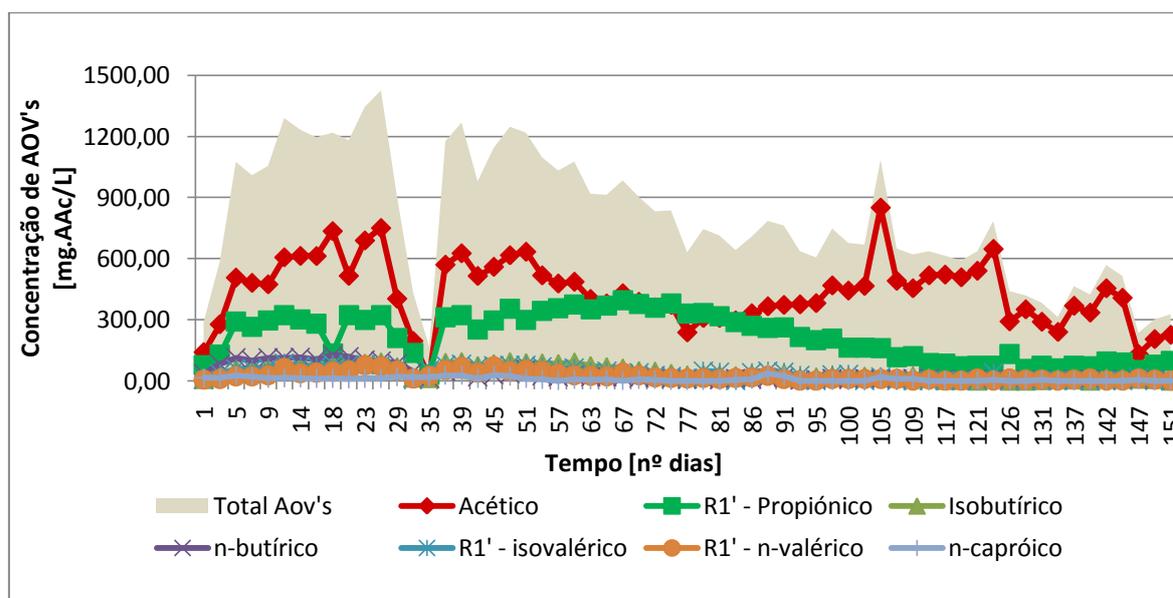
apresenta uma produção de 14,1L. De notar que a biomassa demorou a adaptar-se às condições operacionais, apresentando uma fase lag superior a 100 dias para ambos os reactores, aparentemente devido à elevada carga (30 g CQO/L) imposta no arranque.

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 27:



**Figura 27** - Produção acumulada de metano para os reatores R1' (com alcalinidade) e R2' (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=37 \pm 1^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

- Constata-se claramente que os reatores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  têm, aproximadamente mais 300% de produtividade de metano que os reatores operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . Com o reactor R2 (sem alcalinidade), a produzir cerca de 39,0L de metano enquanto o reactor R1 (com alcalinidade) produziu 31,5L.
- Constata-se ainda que nas mesmas condições operacionais, nos reatores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , a *fase lag* é menos pronunciada. Este facto pode ser justificado pelo facto de as lamas biológicas utilizadas nestes trabalhos serem provenientes de um reactor operado na gama mesofílica ( $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ), pelo que adaptaram-se rapidamente aos reatores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e pelo contrário, a fase de adaptação metabólica prolongou-se nos reatores operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . Por outro lado, as lamas biológicas utilizadas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (Isidoro C., 2009) já tinham sofrido uma adaptação prévia ao substrato, a cargas mais baixas.

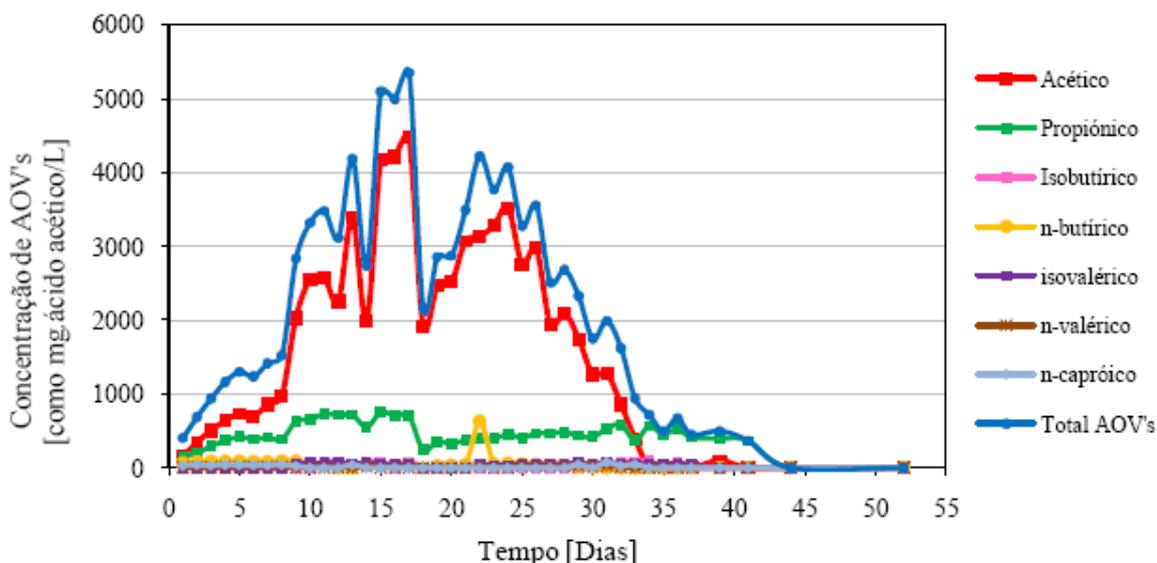
**Evolução dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs)**

**Figura 28** - Concentração de AOVs no reactor R1' (com alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e T=55 ±1°C.

Através da observação do gráfico da figura 28 verifica-se que no reactor R1' (com alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico, os quais contribuem decisivamente para o perfil da evolução da concentração total de AOV's ao longo do ensaio. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 400 mgAAc/L e o ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 1426 mgAAc/L no 25º dia, coincidindo igualmente, com a concentração máxima de ácido acético, com 750,32 mgAAc/L.

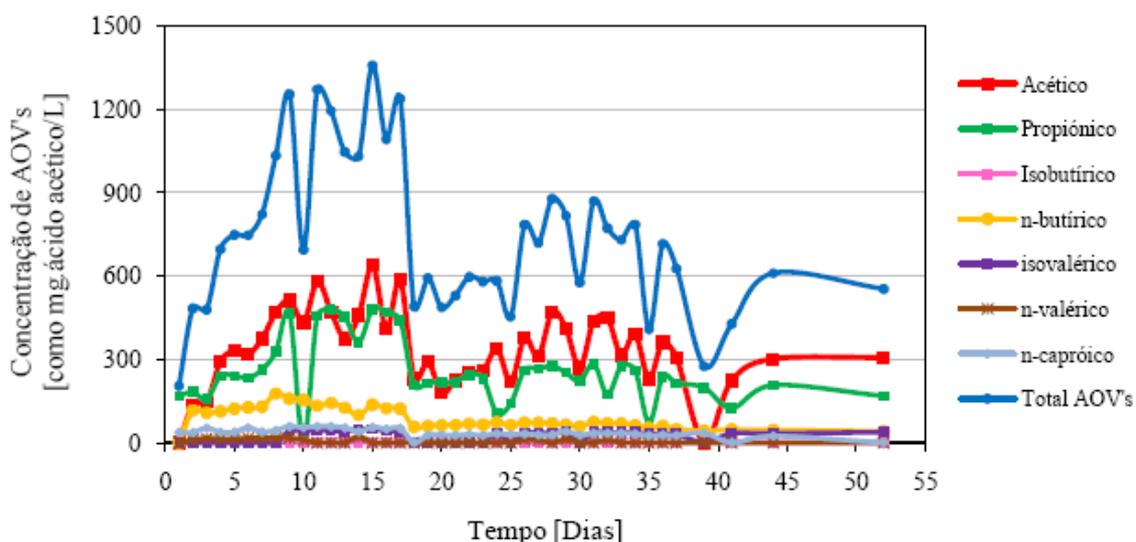
A queda acentuada de concentração de AOVs entre o 28º e 35º decorreu devido a erro analítico, excluindo-se a sua contribuição na interpretação da evolução do respectivo parâmetro.

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 29:



**Figura 29** - Concentração de AOVs no reactor (R1') - com alcalinidade, para uma carga de 30gCQO/L e  $T=37^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

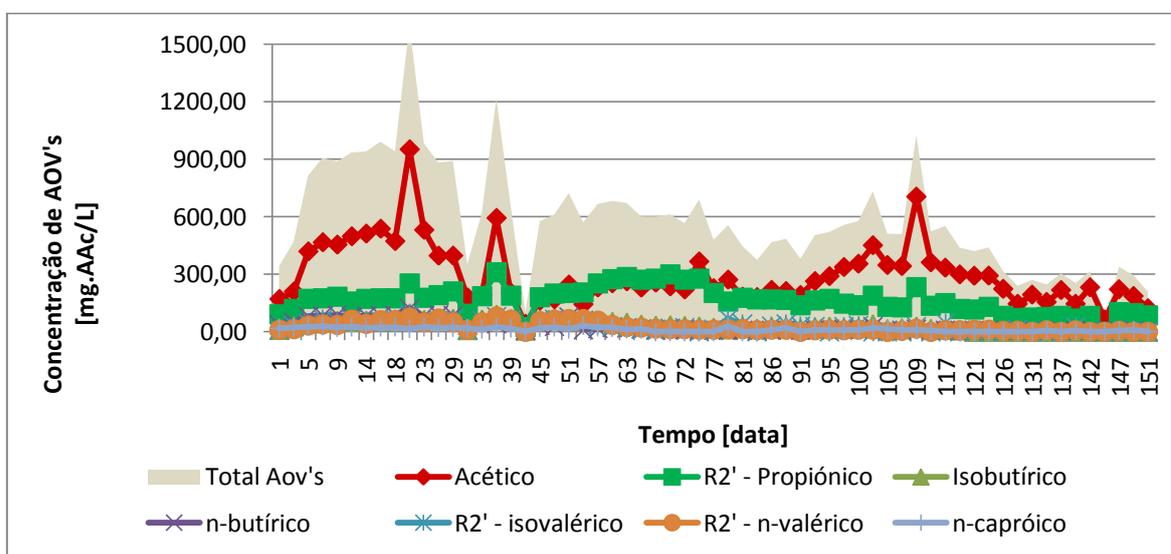
Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 30:



**Figura 30** - Concentração de AOVs no reactor (R1'') - (com alcalinidade), para uma carga de 30gCQO/L e  $T=55^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

- Constatase claramente que atinge-se maiores concentrações em ácido propiónico, ácido acético e Total AOVs para o reactor operado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (figura 29), para o mesmo período de operação (aproximadamente 52 dias). Atingindo máximos de aproximadamente, 800 mgAAc/L, 4500 mgAAc/L e 5356 mgAAc/L no 17º dia, respectivamente;
- De notar que ambos os reactores operados na gama de temperatura termofílica ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ), apresentam curvas com um perfil muito semelhante, predominando os ácidos acético e propiónico (figuras 28 e 30).

De seguida, no gráfico da figura 31 está representada a evolução temporal dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs) correspondentes ao reactor R2'.



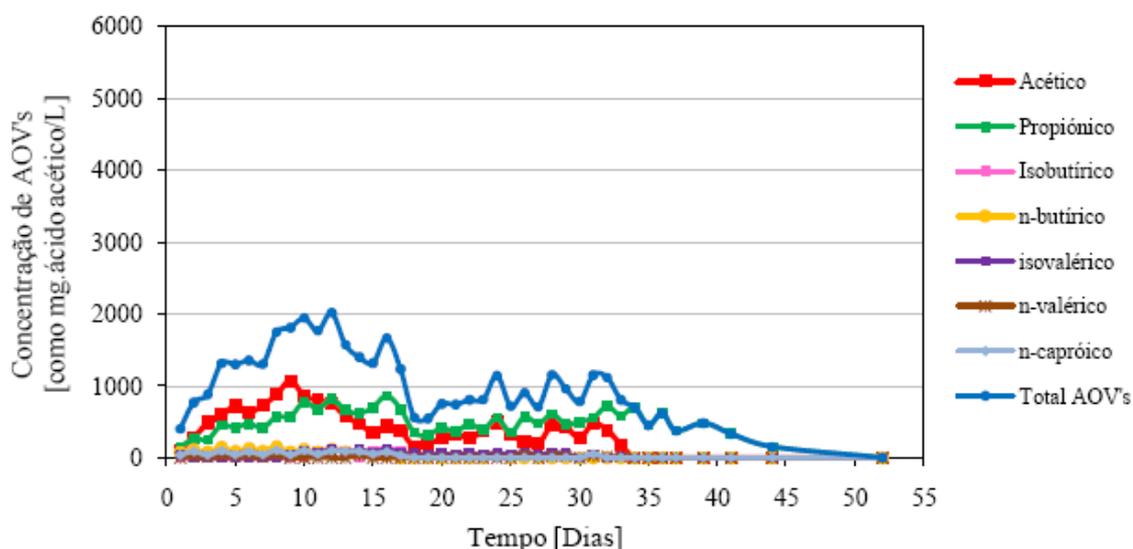
**Figura 31** - Concentração de AOVs no reactor R2' (sem alcalinidade) para uma carga de 30gCQO/L e  $T=55 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Através da observação do gráfico verifica-se que igualmente no reactor R2' (sem alcalinidade) apenas foram detectados alguns AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico, os quais contribuem decisivamente para o perfil da evolução da concentração total de AOVs ao longo do ensaio. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 310

mgAAc/L. O ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio, em especial no 21º dia. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 1599,31 mgAAc/L no 21º dia, coincidindo, com as concentrações máximas dos ácidos acético, propiónico, n-butírico, isobutírico, isovalérico e n-valérico com 951,00 mgAAc/L, 251,17 mgAAc/L, 122,53 mgAAc/L, 95,77 mgAAc/L, 89,87 mgAAc/L e 73,72 mgAAc/L, respectivamente.

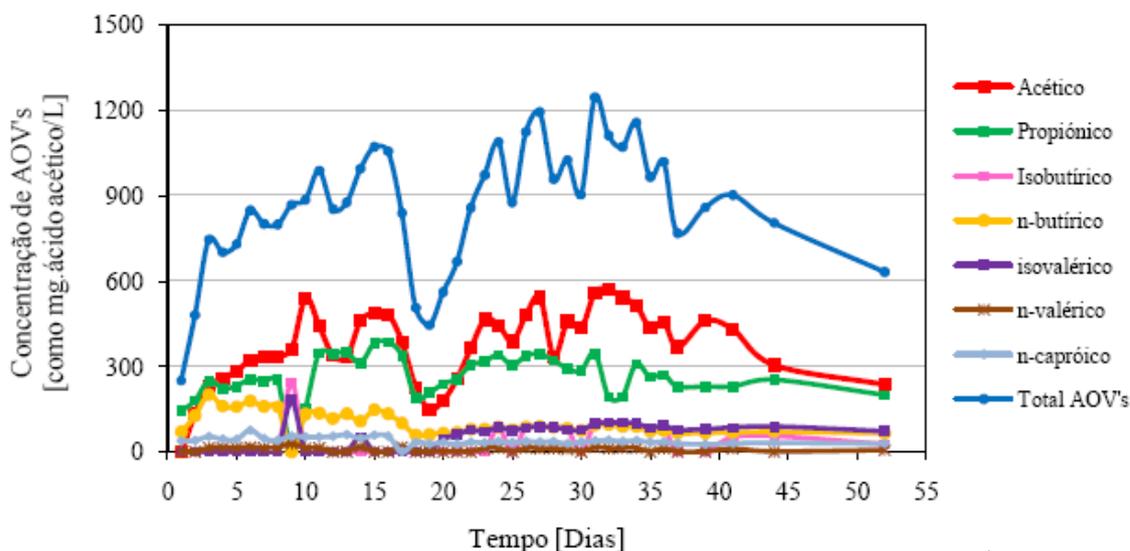
A queda acentuada de concentração de AOVs entre o 28º e 35º, e igualmente entre o 39º e 45º dia decorreu devido a erro analítico, excluindo-se a sua contribuição na interpretação da evolução do respectivo parâmetro.

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na figura 32.



**Figura 32** - Concentração de AOVs no reactor (R2') - sem alcalinidade para uma carga de 30gCQO/L e  $T=37^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

Comparando os mesmos dados, nas mesmas condições operacionais, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  na figura 33.



**Figura 33** - Concentração de AOVs no reactor (R2'') - sem alcalinidade, para uma carga de 30gCQO/L e  $T=55^\circ\text{C}$  (fonte: Isidoro, C., 2009).

- Consta-se claramente que atingem-se maiores concentrações em ácido propiônico, ácido acético e Total AOVs para o reactor operado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (figura 32), para o mesmo período de operação (aproximadamente 52 dias). Atingindo máximos de aproximadamente, e 890 mgAAc/L, 1071mgAAc/L e 2017 mgAAc/L, respectivamente;
- De notar que ambos os reactores operados na gama de temperatura termofílica ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ), apresentam curvas com um perfil muito semelhante, predominando os ácidos acético e propiônico (figuras 31 e 33).
- Em suma, comparando estes 6 reactores pela tabelas 25 e pelas figuras 28, 29, 30, 31, 32 e 33, destaca-se a contribuição da *alcalinidade* com valores, da generalidade dos AOVs, sempre superiores aos reactores operados sem alcalinidade. Pelo contrário, há maior produção de metano nos reactores sem alcalinidade, R2' e (R2').
- De notar, que neste ensaio (a 30 g CQO/L) verifica-se claramente, que os reactores operados à temperatura termofílica produziram menores concentrações de AOVs e igualmente menores volumes de  $\text{CH}_4$ , de uma forma mais expressiva nos reactores aos quais foi adicionada alcalinidade, imediatamente antes do

arranque do processo (figuras 28, 29 e 30). Tal pode ser explicado pelo facto do substrato “lamas DAF” possuir um elevado teor em gorduras, sendo de difícil degradação biológica (Oh., et al 2009). E pelo facto de, a 30 g CQO/L, possuir um rácio lípidos/SSV superior aos reactores operados a 10 g CQO/L, uma vez que a concentração de biomassa no arranque dos reactores foi de igual concentração, 5 gSSV/L. Estes ao serem hidrolisados, são convertidos entre outros, a AGCL, estes por sua vez, em elevadas concentrações podem conduzir à paragem de toda a população bacteriológica e conseqüentemente à paragem de todo o processo de digestão anaeróbia (Masse L., et al 2003; Koster W., et al 1987; Angelidaki I., et al 1992). Esta interrupção do processo pode ser atribuída à flutuação dos flocos microbiológicos à superfície e à inibição que os AGCL exercem sobre os microorganismos anaeróbios, na medida em que há uma adsorção destes às paredes e membranas celulares, afectando significativamente os processos metabólicos de transporte (Oh., et al 2009). Em relação à temperatura termofílica em conjugação com adição de alcalinidade não foram encontradas justificações para esta acentuada inibição, na literatura pesquisada.

**Tabela 25** – Resumo dos resultados obtidos no 2º ensaio.

	Parâmetro comparativo	CH <sub>4</sub> (L)	Máximo - Total AOVs (mg Aac/L)	Máximo - Apr (mg Aac/L)
<b>R1' x R2'</b>	Alcalinidade	11,9 x 14,1	1426 x 1599	400 x 310
<b>(R1') x (R2')</b>	Alcalinidade	31,5 x 39,0	5356 x 2000	800 x 960
<b>(R1'') x (R2'')</b>	Alcalinidade	- <sup>2</sup>	1420 x 1240	510 x 400
<b>R1' x (R1')</b>	Temperatura	11,9 x 31,5	1426 x 5356	400 x 800
<b>R2' x(R2')</b>	Temperatura	14,1 x 39,0	1599 x 2000	310 x 960

**Legenda:** R1' – 30 g CQO/L, 55±1°C, com alcalinidade; R2' - 30 g CQO/L, 55±1°C, sem alcalinidade;

(R1') - 30 g CQO/L, 37 ±1°C, com alcalinidade; (R2') - 30 g CQO/L, 37 ±1°C, sem alcalinidade;

. (R1'') - 30 g CQO/L, 55 ±1°C, com alcalinidade; (R2'') - 30 g CQO/L, 55 ±1°C, sem alcalinidade

<sup>2</sup> Estes dados, de *Isidoro. C., 2009*, não foram usados neste trabalho.



### **7.1.3 3º Ensaio**

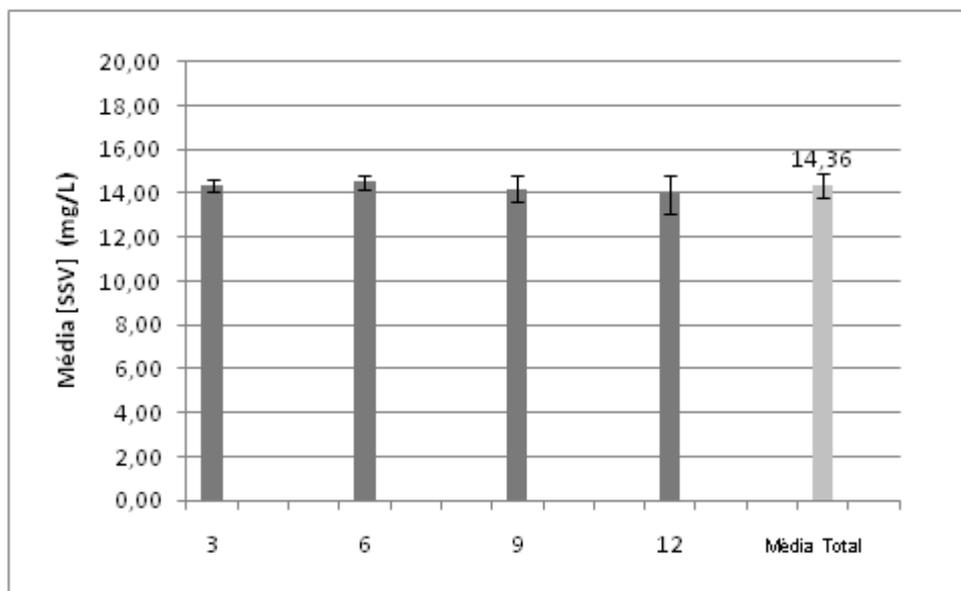
O objectivo deste ensaio foi verificar se a inibição da actividade metanogénica através de um controlo de pH, favorece a presença e /ou aumento da concentração de AOVs. Pois, para efluentes de lacticínios, para valores de pH <5,5, a produção do AOV ácido propiónico (Apr) é favorecida, tornando o processo inibitório para a população metanogénica (Yu. Et al., 2001). De facto, a metanogénese do Apr é mais lenta que a do ácido acético (Aac) e ácido butírico (Abu) (Harper and Pohland, 1986), pelo que é preferível o controlo da predominância da fase acidogénica a um pH 5,5 (Yu., et al 2002a). Assim sendo, como, pela literatura, o pH tem uma influência significativa na distribuição dos AOVs, pretende-se obter uma maior produtividade da generalidade dos AOVs e especificamente de Apr que, como referido anteriormente, é um dos AOVs pretendidos para a posterior biosíntese de PHAs.

Como já referido, neste e nos ensaios anteriores, foi usado um volume adequado de lamas biológicas de forma a igualar, em termos mássicos, a concentração desejada de 5 g SSV/L. Para tal, procedeu-se à amostragem de 4 amostras compostas em 4 pontos diferentes, cada uma constituída por 3 amostras simples, determinando-se a média e desvio padrão, e respectiva quantificação do volume de lamas biológicas (figura 34). De notar que as médias de cada ponto de amostragem são semelhantes, pelo que se deduz que a homogeneização foi previa e devidamente efectuada.

Este ensaio é realizado à mesma temperatura que os anteriores,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , no qual três reactores são operados a carga de 10 gCQO/L e um outro operado a 30 gCQO/L. São utilizadas novas lamas biológicas e novas lamas DAF, cujas características se encontram apresentadas de seguida, na tabela 25. As condições operacionais deste ensaio estão presentes nas tabelas 26 e 27.

**Tabela 26** - Características das lamas DAF e das lamas biológicas utilizadas nos ensaios (valores médios  $\pm$  desvio padrão).

Parâmetro	Lamas DAF					Lamas Biológicas
	CQOt [g/L]	CQOs [g/L]	Sólidos [gSSV/L]	Alcalinidade [mgCaCO3/L]	PH [-]	Sólidos [gSSV/L]
1º Ensaio	184,83 $\pm$ 2,57	15,25 $\pm$ 0,45	103,20 $\pm$ 4,78	6470,00 $\pm$ 43,59	5,46 $\pm$ 0,01	14,36 $\pm$ 0,53



**Figura 34** - Desvio padrão da média de cada amostra composta à concentração dos SSV.

**Tabela 27** - Parâmetros operacionais aplicados nos ensaios para os reactores R3' (com alcalinidade e PH=4) operado a 30 gCQO/L, a 55 ±1°C.

Reactor	Carga	Lamas DAF	Lamas Biológicas	Lamas Biológicas	Alcalinidade		PH	Nutrientes	Azoto
	[gCQOt/L]	[mL]	[gSSV/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> ]	[gKHCO <sub>3</sub> ]	[-]	[mL]	[min]
R3'	30	812	5	1742	5	5	4	15	3

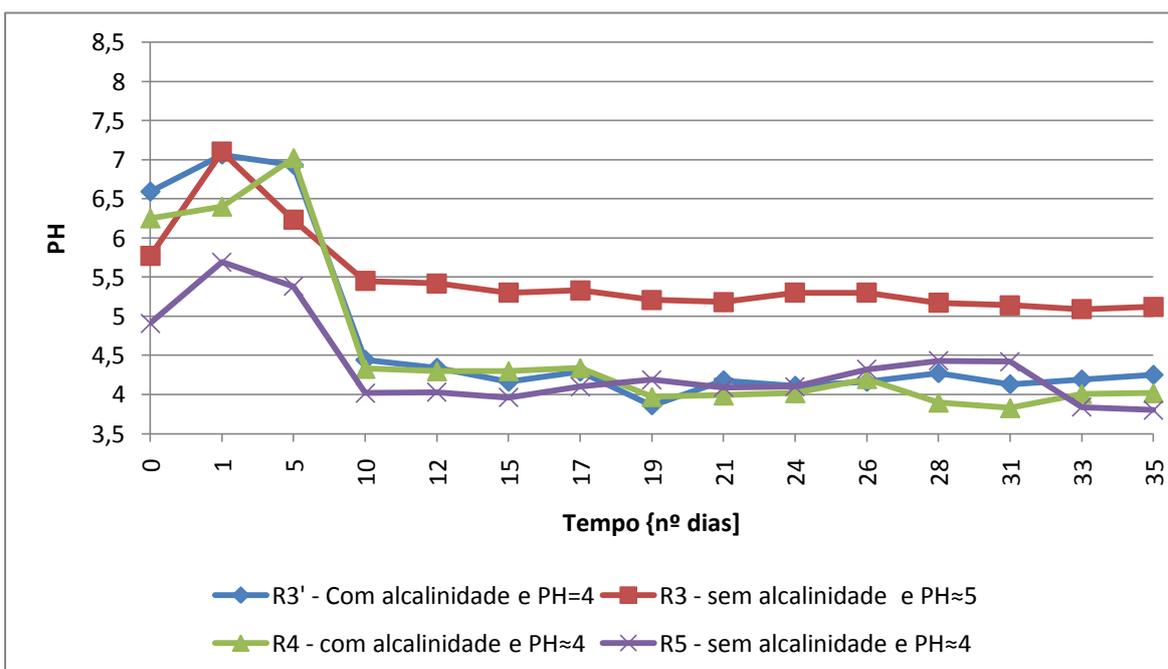
**Tabela 28** - Parâmetros operacionais aplicados nos ensaios para os reactores R3 (sem alcalinidade e PH=5), R4 (com alcalinidade e PH=4), R5 (sem alcalinidade e PH=4) operados a 10 gCQO/L, a 55 ±1°C.

Reactor	Carga	Lamas DAF	Lamas Biológicas	Lamas Biológicas	Alcalinidade		PH	Nutrientes	Azoto
	[gCQOt/L]	[mL]	[gSSV/L]	[mL]	[gNaHCO <sub>3</sub> ]	[gKHCO <sub>3</sub> ]	[-]	[mL]	[min]
R3	10	271	5	1742	-	-	5	15	3
R4	10	271	5	1742	5	5	4	15	3
R5	10	271	5	1742	-	-	4		

Os resultados experimentais de todos os reactores deste ensaio relativamente à produção de metano e sua evolução temporal, são apresentados de seguida.

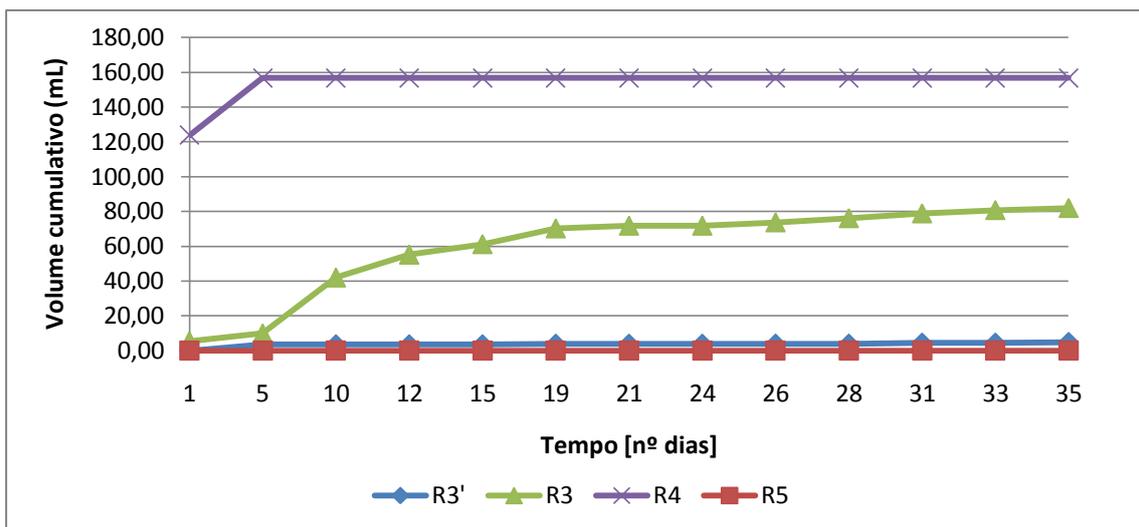
### Controlo de PH

O pH dos reactores foi corrigido gradualmente, geralmente de 2 em 2 dias, de uma forma manual, pela adição de ácido clorídrico (HCL) concentrado a 9% (v/v) para os valores pré-determinados nas tabelas 26 e 27. Pelo gráfico da figura 35, apenas ao 10º dia, o pH não sofreu variações significativas após a sua correcção, logo será expectável que, neste período, a produção de CH<sub>4</sub> não será inibida.



**Figura 35** – Perfis de pH para os reactores R3', R3, R4, e R5 à T=55 ±1°C.

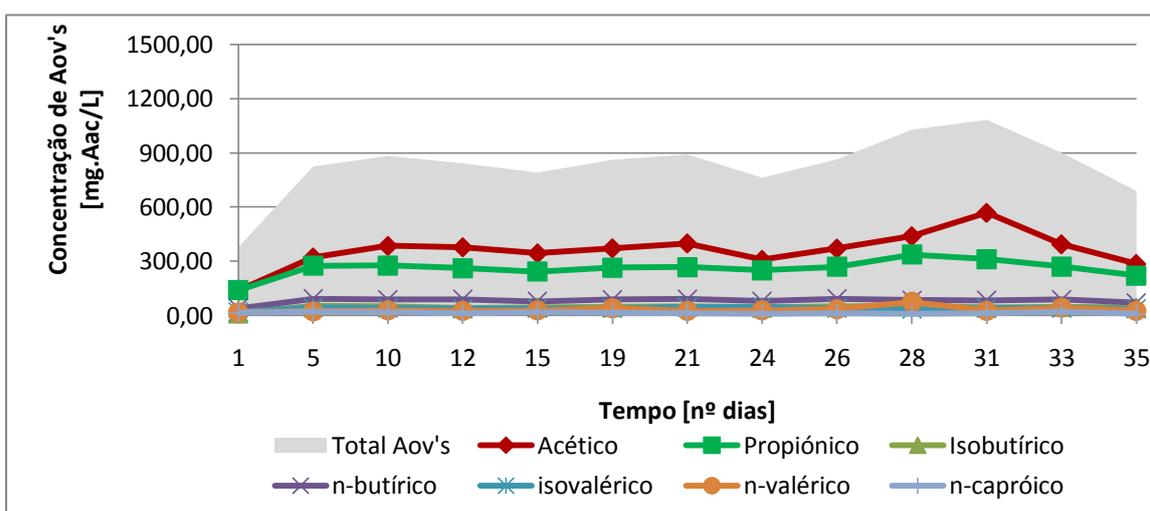
### Produção de metano



**Figura 36** - Produção acumulada de metano para os reatores R3' (30gCQO/L, com alcalinidade, pH=4) e R3 (10 g CQO/L, sem alcalinidade, pH=5), R4 (10 g CQO/L, com alcalinidade, pH=4), R5 (10 g CQO/L, sem alcalinidade, pH=4) e T=55 ±1°C.

Da observação do gráfico da figura 36 verifica-se que todos os reatores possuem uma produção de metano reduzida, contudo são semelhantes ao comparar com os reatores operados nos ensaios 1º e 2º para o mesmo período operacional, 35 dias. Nomeadamente, ao comparar com os reatores R2 × R3 e R1' × R3'. Exceptua-se o reactor R1, que ao 35º dia já possuía um volume de CH<sub>4</sub> superior a 4L, superior aos 0,16L de R4.

### Evolução dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs)



**Figura 37** - Concentração de AOV's no reator R3' (com alcalinidade e PH=4) para uma carga de 30gCQO/L e T=55 ±1°C.

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R3' (com alcalinidade e PH=4) apenas foram detectados dois AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico, os quais contribuem significativamente para o perfil da evolução da concentração total de AOV's ao longo do ensaio. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 400 mgAAc/L e o ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 1083 mgAAc/L no 31º dia.

- Comparando com as concentrações dos seus reactores homólogos presentes nos gráficos das figuras 31 e 32, constata-se que este reactor, R3' (com alcalinidade e PH=4), apresenta concentrações inferiores para todos os AOVs, excepto para o ácido propiónico que apresenta uma concentração média superior em relação aos restantes, os reactores R1' e R2' do 2º ensaio. Com, 259,90 mgAAc/L, 228,32 mgAAc/L e 168,18 mgAAc/L, respectivamente. Tal facto está documentado na literatura, nomeadamente por Yu & Fang, 2002a que ao estudarem efluentes lácteos concluíram que o pH tem um efeito relevante na distribuição dos produtos da acidificação, sendo favorecida a produção de acetato e butirato para  $\text{pH} > 5,5$  e a de propionato a  $\text{pH} < 5,5$ .

Os resultados experimentais do reactor R3, operado a 10 gCQO/L, sem adição de alcalinidade e a  $\text{PH} \approx 5$ , relativamente à produção de AOVs e ao seu perfil temporal, são apresentados de seguida.

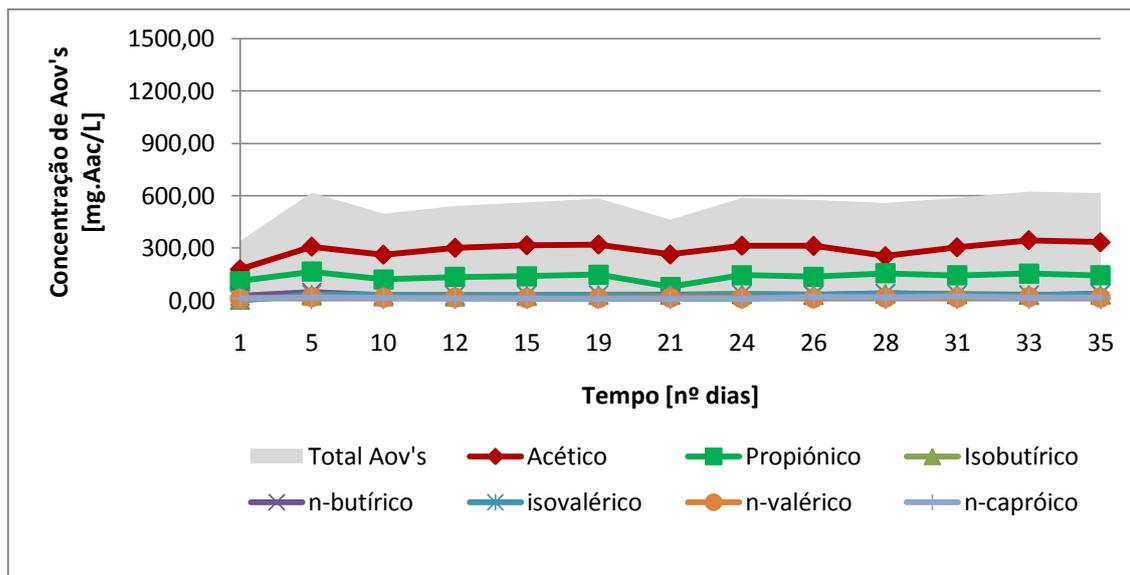


Figura 38 - Concentração de AOVs no reactor R3 (com alcalinidade e PH=5) para uma carga de 30gCQO/L e T=55 ±1°C.

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R3 (sem alcalinidade e PH=5) apenas foram detectados dois AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico, os quais contribuem significativamente para o perfil da evolução da concentração total de AOVs ao longo do ensaio. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 200 mgAAc/L e o ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 624,49 mgAAc/L no 33º dia.

Os resultados experimentais do reactor R4, operado a 10 gCQO/L, com adição de alcalinidade e a PH≈4, relativamente à produção de AOVs e à sua evolução temporal, são apresentados de seguida.

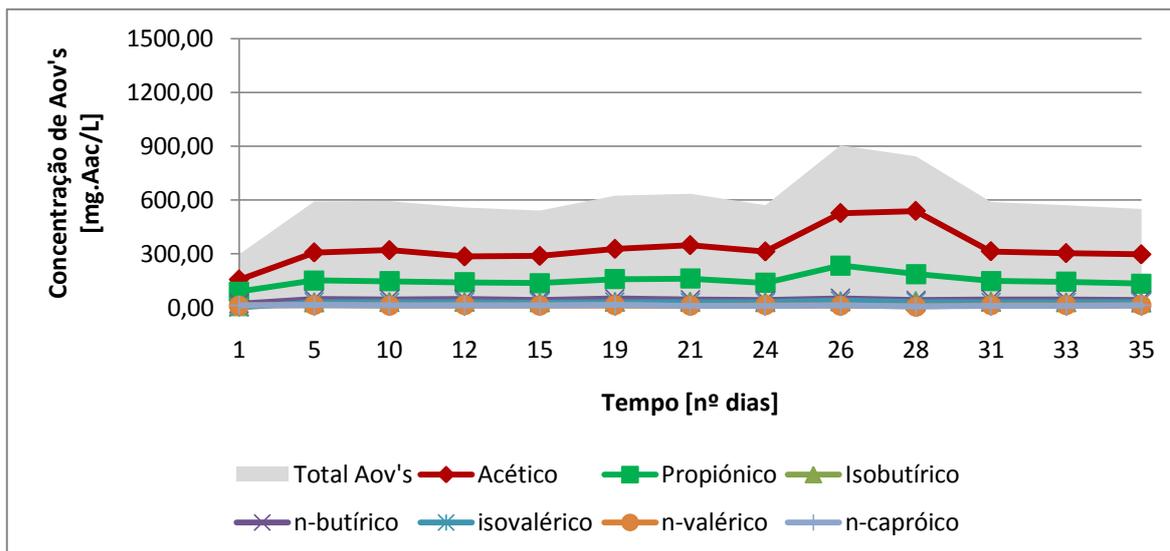


Figura 39 – Concentração de AOVs no reactor R4 (com alcalinidade e PH=4) para uma carga de 10gCQO/L e T=55 ±1°C.

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R4 (com alcalinidade e PH=4) apenas foram detectados alguns AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico, os quais contribuem decisivamente para o perfil da evolução da concentração total de AOVs ao longo do ensaio. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 250 mgAAc/L e o ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 905,47 mgAAc/L no 26º dia.

Os resultados experimentais do reactor R5, operado a 10 gCQO/L, sem adição de alcalinidade e a PH≈4, relativamente à produção de AOVs e à sua evolução temporal, são apresentados de seguida.

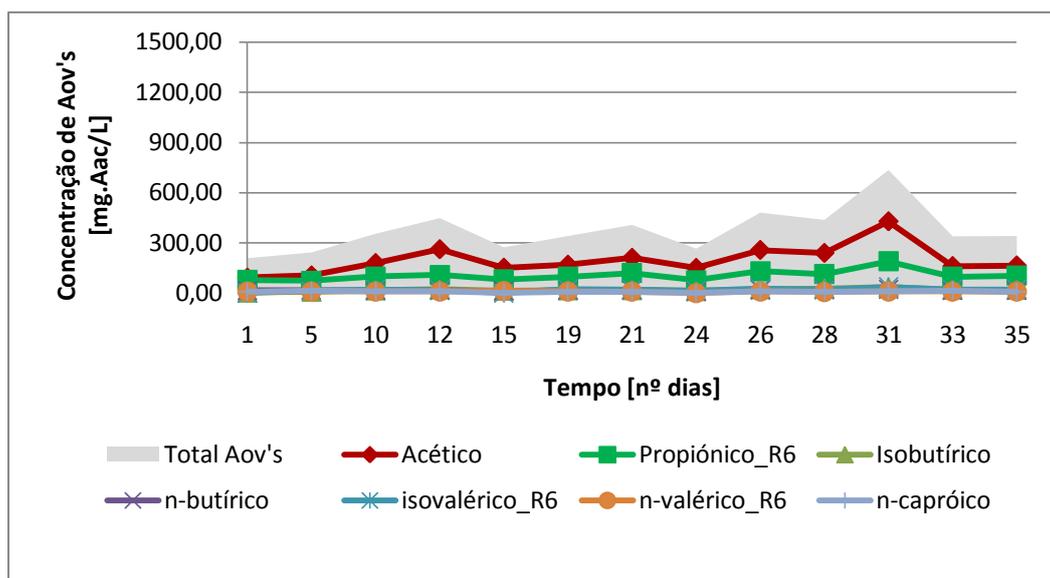


Figura 40 – Concentração de AOVs no reactor R5 (sem alcalinidade e PH=4) para uma carga de 10gCQO/L e T=55 ±1°C.

Através da observação do gráfico verifica-se que no reactor R5 (sem alcalinidade e PH=4) apenas foram detectados alguns AOVs maioritários, entre eles o ácido acético e o ácido propiónico, os quais contribuem de uma forma significativa para o perfil da evolução da concentração total de AOVs ao longo do ensaio. O ácido propiónico é identificado em pequenas concentrações, sempre inferiores a 200 mgAAc/L e o ácido acético destaca-se como sendo o AOV presente em maior quantidade ao longo de todo o ensaio. A concentração total de AOVs produzidos atingiu o máximo de 733,45 mgAAc/L no 31º dia.

- Comparando com as concentrações dos seus reactores homólogos, no ensaio 1º, presentes nos gráficos das figuras 22,23,24,25, constata-se que estes reactores, R3, R4 e R5 apresentam concentrações substancialmente inferiores para todos os AOVs. Logo, a gama de pH utilizada, 4-5, prejudica a produção de AOVs;
- Comparando os gráficos das figuras 39 e 40, verifica-se que a alcalinidade favorece a produção de AOVs.

### **Intercomparação global da evolução temporal de AOVs**

De seguida são apresentadas as tabelas resumo, agrupadas por carga orgânica, do trabalho realizado, exceptuando os dados do trabalho anterior, de Isidoro C., 2009, uma vez que não foi possível a sua obtenção. Estas representam a média e desvio padrão dos AOVs ao longo de um período operacional passível de comparação, 35 dias de operação. Os resultados a sublinhado realçam os valores máximos por tabela.

Na tabela 31 apresentam-se os resultados dos reactores dos 3 ensaios para concluir sobre o efeito do parâmetro carga orgânica na distribuição dos produtos resultantes da acidificação.

**Tabela 29** – Concentração de AOVs nos reactores operados a uma carga de 10gCQO/L e T=55 ±1°C.

<b>Concentração média de AOVs</b>								
	Acético	Propiónico	Isobutírico	n-butírico	Isovalérico	n-valérico	n-capróico	Total AOVs
<b>R1</b>	<u>411,70±</u> 136,79	<u>160,48±</u> 73,39	<u>48,21±</u> 17,41	<u>54,64±</u> 20,61	<u>46,23±</u> 15,04	14,24± 7,02	11,02± 7,46	<u>746,51±</u> 237,70
<b>R2</b>	329,08± 113,70	123,87± 31,34	43,59± 18,49	46,01± 15,14	42,03± 17,78	12,00± 2,74	13,47± 5,18	610,05± 191,99
<b>R3</b>	293,51± 43,94	136,33± 22,62	29,32± 9,19	33,19± 5,65	32,32± 2,96	<u>14,62±</u> <u>2,38</u>	<u>14,35±</u> <u>4,54</u>	551,15± 78,08
<b>R4</b>	331,89± 99,75	150,92± 33,08	30,04± 7,32	42,74± 7,17	30,01± 2,74	11,27± 2,06	11,18± 2,55	605,79± 145,99
<b>R5</b>	197,44± 86,77	105,33± 30,89	18,92± 8,19	16,31± 3,49	21,41± 6,35	9,30± 1,27	9,69± 2,21	372,90± 136,34

**Tabela 30** – Concentração de AOVs nos reactores operados a uma carga de 30gCQO/L e T=55 ±1°C.

<b>Concentração média de AOVs</b>								
	Acético	Propiónico	Isobutírico	n-butírico	isovalérico	n-valérico	n-capróico	Total AOVs
<b>R1'</b>	<u>467,95±</u> <u>222,36</u>	<u>228,32±</u> <u>99,77</u>	<u>60,28±</u> <u>28,74</u>	<u>91,22±</u> <u>33,74</u>	<u>59,99±</u> <u>24,63</u>	37,63± 22,35	15,67± 4,63	<u>961,06±</u> <u>400,46</u>
<b>R2'</b>	425,13± 197,67	168,18± 41,45	51,71± 22,14	75,77± 22,76	52,01± 21,64	<u>43,42±</u> <u>20,78</u>	<u>21,47±</u> <u>4,33</u>	837,70± 308,57
<b>R3'</b>	361,66± 96,89	259,90± 46,56	44,05± 10,66	81,07± 14,18	38,62± 6,86	31,51± 14,77	14,07± 4,18	830,89± 170,47

**Tabela 31** – Resumo dos resultados obtidos no 3º ensaio considerando o parâmetro pH, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ .

	<b>Parâmetro comparativo</b>	<b>CH<sub>4</sub> (L)</b>	<b>Máximo - Total AOVs (mg Aac/L)</b>	<b>Máximo - Apr (mg Aac/L)</b>
<b>R1 x R4</b>	Efeito do pH	4,4 x 0,16	1345 x 906	400 x 250
<b>R2 x R3</b>	Efeito do pH	1,9 x 80,0	890 x 625	160 x 200
<b>R2 x R5</b>	Efeito do pH	1,9 x 0	890 x 733	160 x 200
<b>R3 x R5</b>	Efeito do pH	80,0 x 0	625 x 733	200 x 200
<b>R1' x R3'</b>	Efeito do pH	11,9 x 0,16	1426 x 906	400 x 250

- Resumindo, pelos dados destas tabelas (29, 30 e 31), constata-se que a alcalinidade favorece a generalidade dos AOVs, excepto os ácidos n-valérico e n-capróico, nas duas cargas orgânicas aplicadas (10 gCQO/L e 30 g CQO/L).

Verifica-se também, que o controlo de PH efectuado nos reactores R3, R4, R5 e R3', não favorece a generalidade dos AOVs.

- Constata-se ainda, que os reactores operados a cargas orgânicas elevadas, nomeadamente a 30 gCQO/L, apresentam concentrações superiores para todos os AOVs. Contudo, face ao exposto no gráfico da figura 29, é de facto, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , a 30 gCQO/L, com alcalinidade e sem controlo de PH que se obtém as máximas concentrações, ao longo da evolução temporal, na generalidade AOVs.

**Tabela 32** – Resumo dos resultados obtidos nos 3 ensaios considerando o parâmetro carga orgânica, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ .

	Parâmetro comparativo	CH <sub>4</sub> (L)	Máximo - Total AOVs (mg Aac/L)	Máximo - Apr (mg Aac/L)
<b>R1 x R1' x (R1'')</b>	Carga orgânica	$4,4 \times 11,9 \times 10^{-3}$	$1345 \times 1426 \times 1420$	$400 \times 400 \times 510$
<b>(R1') x (R2') x (R2'')</b>	Carga orgânica	$1,9 \times 14,1 \times 10^{-2}$	$890 \times 1599 \times 1240$	$160 \times 310 \times 400$
<b>R3' x R4</b>	Carga orgânica	$0 \times 0,160$	$1083 \times 906$	$400 \times 250$

**Legenda:** R1 - 10 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade; R1' - 30 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade; (R1'') - 30 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade;

R2 - 10 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade; R2' - 30 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade; (R2'') - 30 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade;

R4 - 10 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade, pH=4; R3' - 30 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , com alcalinidade, pH=4.

- Pela tabela 31, comparando os resultados obtidos nos 3 ensaios, considerando o efeito da carga orgânica, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , constata-se que o reactor R2' - 30 g CQO/L,  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade apresenta a máxima concentração da CQO convertida a AOVs.

<sup>3</sup> Estes dados, de Isidoro. C., 2009, não foram usados neste trabalho.



## 8. DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Na discussão dos resultados presentes nos gráficos das figuras que serão apresentadas abaixo serão abordados com maior detalhe os reactores operados que não sofreram a respectiva correcção de PH pois, como referido anteriormente, foram os reactores que obtiveram resultados mais promissores na produção e correspondente rendimento de conversão a AOVs e a metano. Serão também alvo de maior incidência na interpretação dos dados, os reactores comparáveis, sem correcção de PH e para as diferentes gamas de temperatura, a  $37\pm 1^\circ\text{C}$  e  $55\pm 1^\circ\text{C}$ , isto é, os reactores com e sem alcalinidade a 10 e a 30g CQO/L.

Nos gráficos das figuras 41, 43, 45 e 46 apresentam-se os resultados para os vários reactores elaboradas por *Isidoro, C., 2009*, em função das cargas orgânicas aplicadas para as temperaturas de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . Nos gráficos das figuras 42, 44, 47 e 48 de forma a se comparar os resultados, apresentam-se os resultados da operação dos diferentes reactores deste trabalho ( $55\pm 1^\circ\text{C}$ ). Face aos resultados obtidos, neste tipo de reactores, descontínuos, além dos AOVs, também se perspectiva a valorização do subproduto na produção de metano.

Sendo assim, são apresentados de seguida os valores da produção total de metano e os da conversão de CQO a metano para um total de 18 reactores, em função das cargas orgânicas aplicadas, das diferentes temperaturas, dos vários PH (com e sem controlo) e da presença ou ausência de alcalinidade.

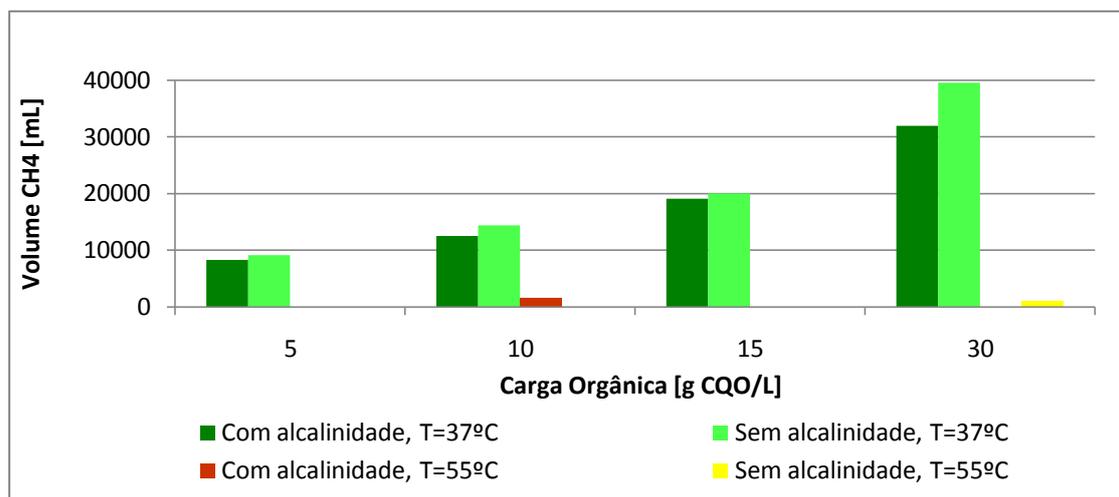


Figura 41 – Produção total de metano nos reactores com e sem alcalinidade, em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 ± 1°C e 55 ± 1°C (fonte: ISIDORO 2009).

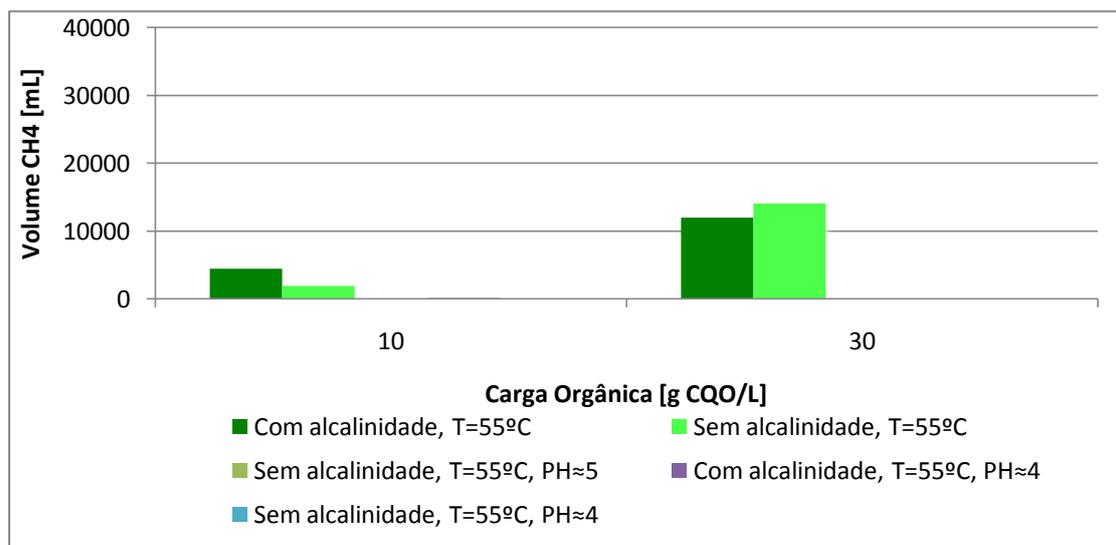


Figura 42 – Produção total de metano nos reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de PH e em função da carga orgânica para as temperaturas 55 ± 1°C.

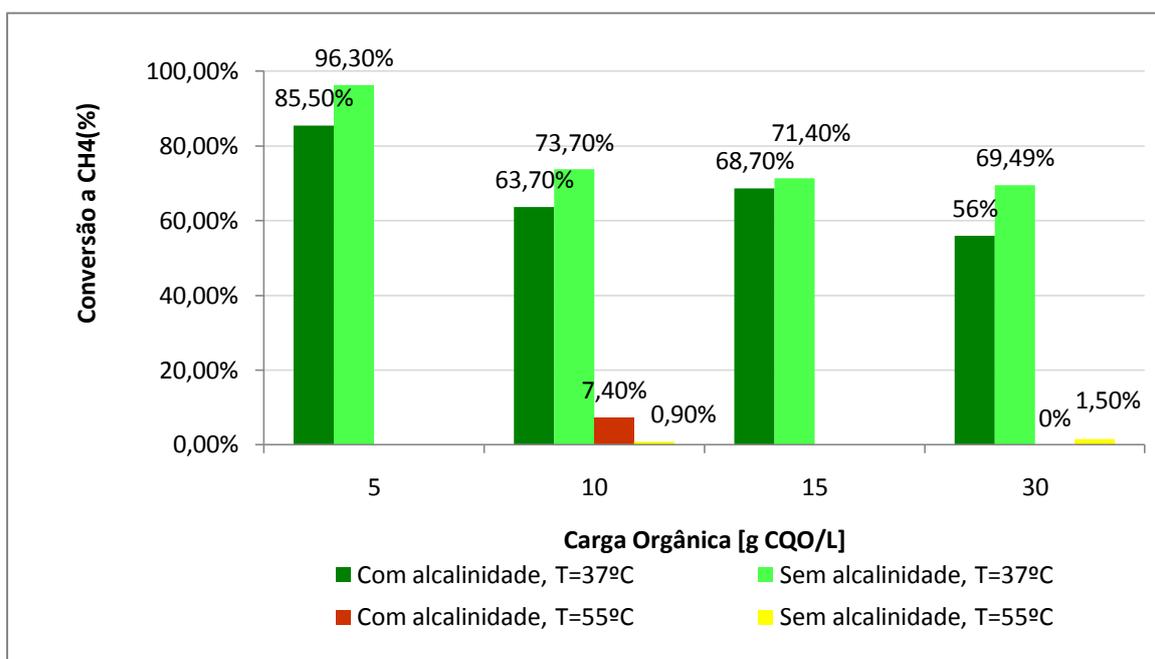
No gráfico da figura 41 observa-se, que à temperatura de 37 ± 1°C para os reactores sem alcalinidade, nas diferentes cargas orgânicas, nomeadamente, 5, 10, 15 e 30 g CQO/L, a produção de metano é superior nos reactores operados com a adição de alcalinidade e é crescentemente superior ao longo das cargas referidas, respectivamente. Para os reactores operados a 55 ± 1°C, a produção de

metano è desprezável, não ultrapassando os 1,5L. A produção máxima verificou-se no reactor operado a 30 gCQO/L, sem adição de alcalinidade, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e sem controlo de PH, com aproximadamente 40L.

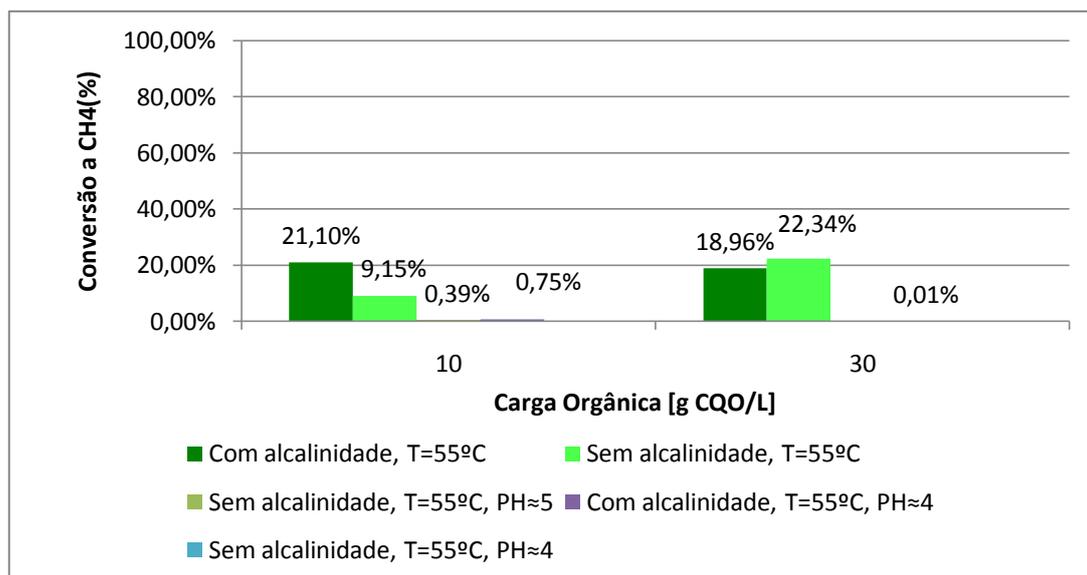
No gráfico da figura 42, com o reactor operado a 30 g CQO/L, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade e sem controlo de PH a produtividade, à semelhança do gráfico da figura 41, foi superior ao reactor operado sem adição de alcalinidade, com 14,1L. Contudo, o mesmo já não se verificou nos reactores operados a 10 g CQO/L.

Comparando os gráficos das figuras 41 e 42 observa-se claramente que a temperatura é o parâmetro que mais influenciou a produção de metano, neste caso, a não produção deste. Verifica-se ainda que, comparando as duas gamas de temperatura, para as mesmas cargas orgânicas, nomeadamente a 10 e 30 g CQO/L, houve uma redução de produtividade na ordem dos 65% para os reactores operados na gama termofílica ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

### **Rendimento da conversão a metano(%)**



**Figura 43** – Conversão de CQO a metano (%) para os reactores com e sem alcalinidade em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55°C (fonte: ISIDORO 2009).



**Figura 44** – Conversão de CQO a metano (%) para os reactores com e sem alcalinidade, com e sem correção de PH e em função da carga orgânica para as temperaturas 55 ±1 C.

Pelo gráfico da figura 43, na qual está representada a conversão de CQO a metano (%), verifica-se o oposto do gráfico da figura 41, respeitante   produção de metano (mL). Verifica-se que   medida que se aumenta a carga orgânica, a conversão de CQO a metano (%)   sucessivamente inferior apresentando, igualmente, o reactor sem alcalinidade uma conversão sempre superior ao reactor com alcalinidade. A máxima conversão de CQO a metano (%) verifica-se para o reactor operado a 5 gCQO/L ao 12  dia de operação (*fonte: Isidoro C., 2009*), sem adição de alcalinidade, a 37 ±1 C e sem controlo de PH, com 96,30%.

No gráfico da figura 44, observa-se claramente que a conversão de CQO a metano (%)   consideravelmente inferior, comparando com as mesmas condições operacionais anteriores, na gama mesofílica (figura 43). Verifica-se também o efeito inibitório da temperatura a 55±1 C na conversão de CQO a metano (%). Comparando os dois gráficos, observa-se ainda que, ao contrário do gráfico da figura 43, na figura 44, a carga orgânica de 30 gCQO/L apresenta maior conversão de CQO a metano (%), contudo este facto deve-se   diferenç a do tempo de operação dos reactores, 109 dias para os reactores R1 e R2 (10 g CQO/L) e 151 dias para os reactores R1' e R2' (30 gCQO/L), legendados na

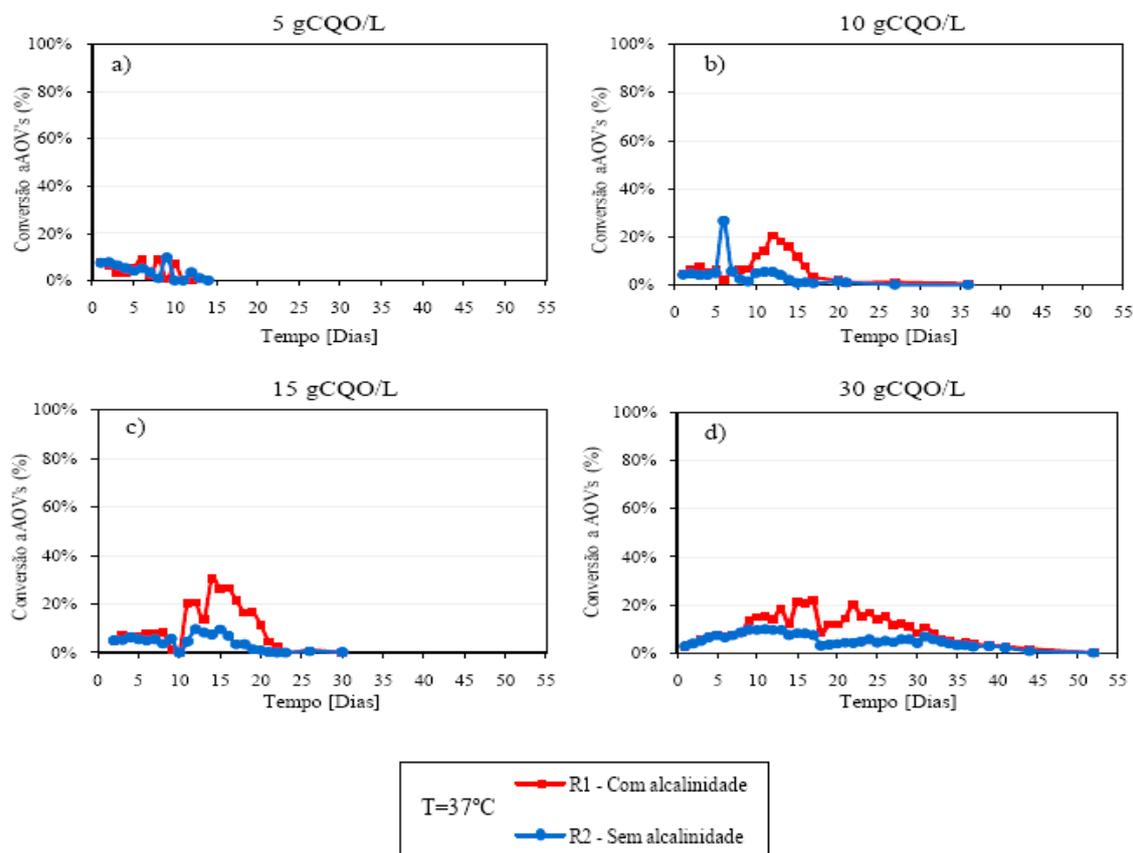
tabela 19. Assim, teria sido expectável o mesmo perfil verificado no gráfico da figura 43.

Concluindo, obtém-se a maior produção de metano para cargas elevadas (30 gCQO/L), sem adição de alcalinidade, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e sem controlo de PH, contudo com um período de operação superior em relação às cargas sucessivamente mais baixas, como se pode verificar nas **tabelas 10 e 11**. Já em termos conversão de CQO a metano (%), isto é, do rendimento de conversão da CQO a metano (%), constata-se que esta é próxima do ideal, com 96,30%, para cargas reduzidas, nomeadamente para 5 gCQO/L, sem adição de alcalinidade, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e sem controlo de PH, aproximadamente ao 12º dia (*fonte: Isidoro C., 2009*).

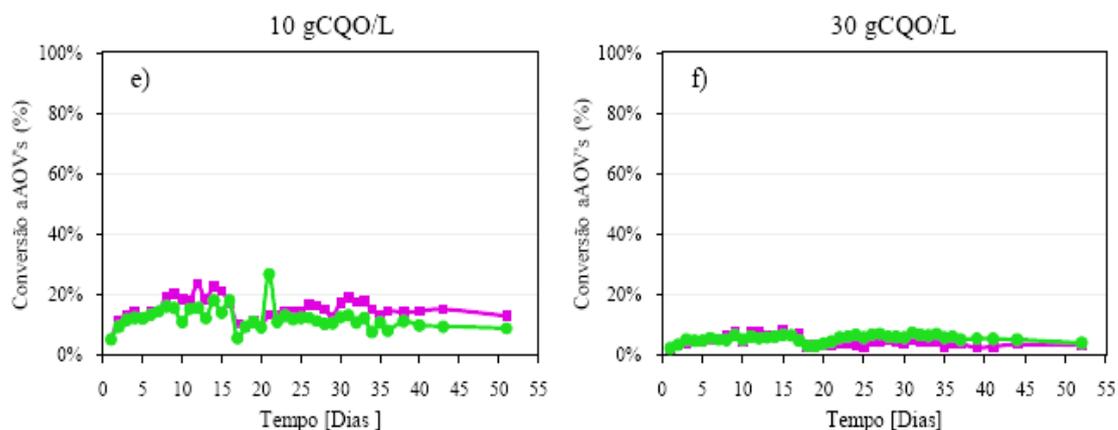
De notar que a alcalinidade não favorece a produção nem o rendimento da conversão de CQO a metano (%) a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (figura 43), já a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  não é possível tirar conclusões precisas, uma vez que se verificam dados contraditórios entre os reactores operados a 10 g CQO/L e a 30 g CQO/L (figura 46).

### Conversão instantânea AOVs(%)

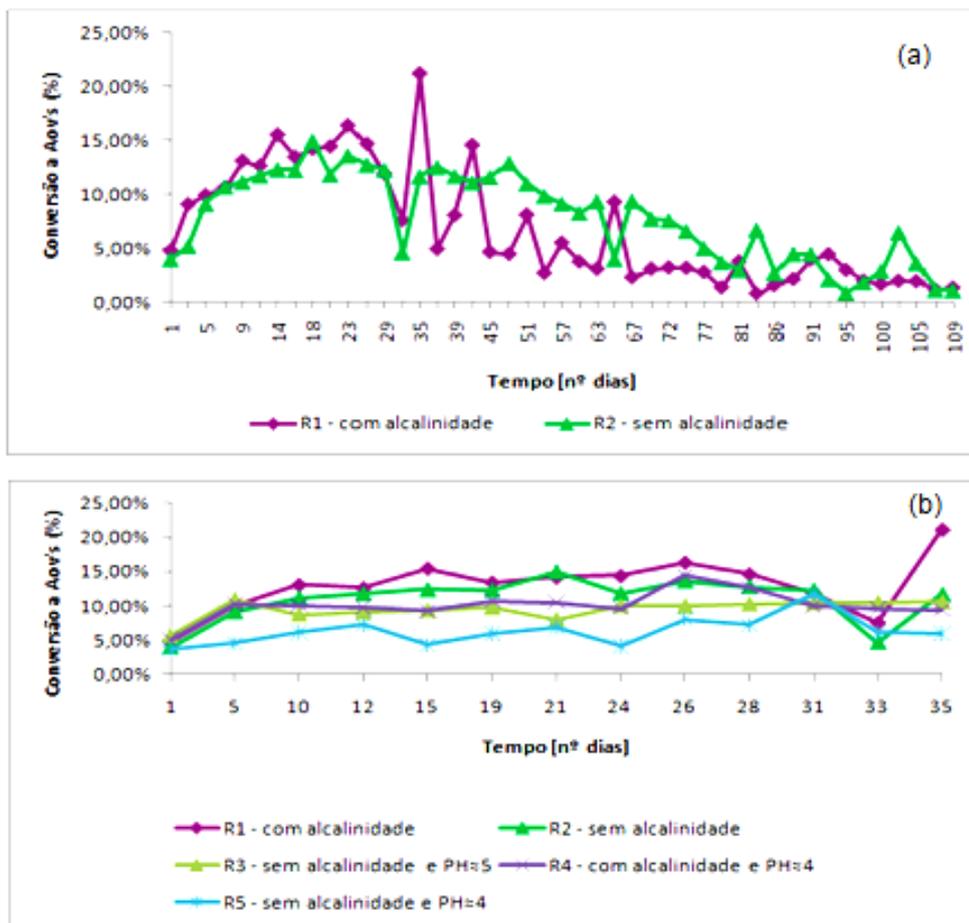
Nos gráficos das figuras 47,48,49 e 50 apresentam-se os valores de conversão de CQO a AOVs (%) ao longo dos vários ensaios.



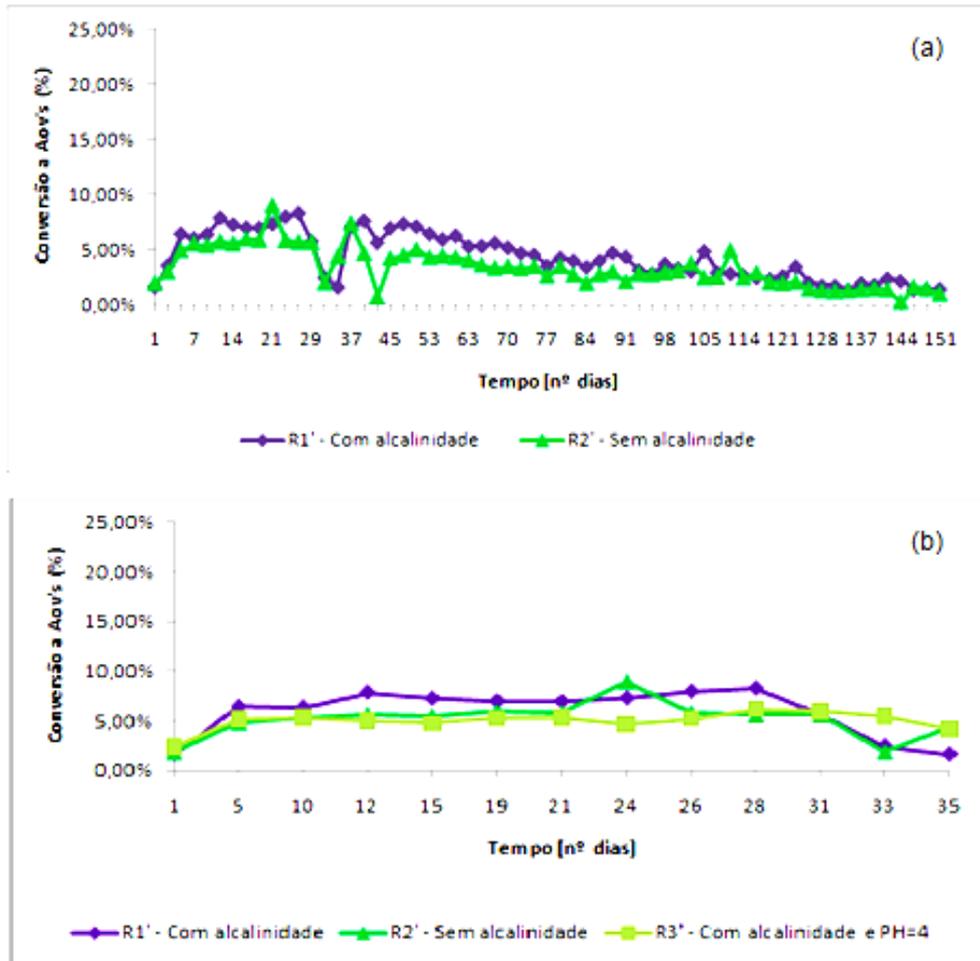
**Figura 45** – Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (fonte: ISIDORO 2009).



**Figura 46** – Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  (fonte: ISIDORO 2009).



**Figura 47** – Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores R1 (com alcalinidade), R2 (sem alcalinidade), R3 (sem alcalinidade e PH=5), R4 (com alcalinidade e PH=4) e R5 (com alcalinidade e PH=4) com carga orgânica de 10 g CQO/L para as temperaturas de 55 ±1°C, para 109 dias (a) e 35 dias (b).



**Figura 48** – Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reactores R1' (com alcalinidade), R2' (sem alcalinidade), R3' (com alcalinidade e PH=4), com carga orgânica de 30 g CQO/L para as temperaturas de  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , para 151 dias (a) e 35 dias (b).

Dos gráficos das figuras 45,46,47 e 48 observa-se que, tanto na gama mesofílica ( $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), como na termofílica ( $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) a conversão de CQO a AOVs ao longo dos ensaios é baixa em todos os reactores, nunca ultrapassando, os 30%.

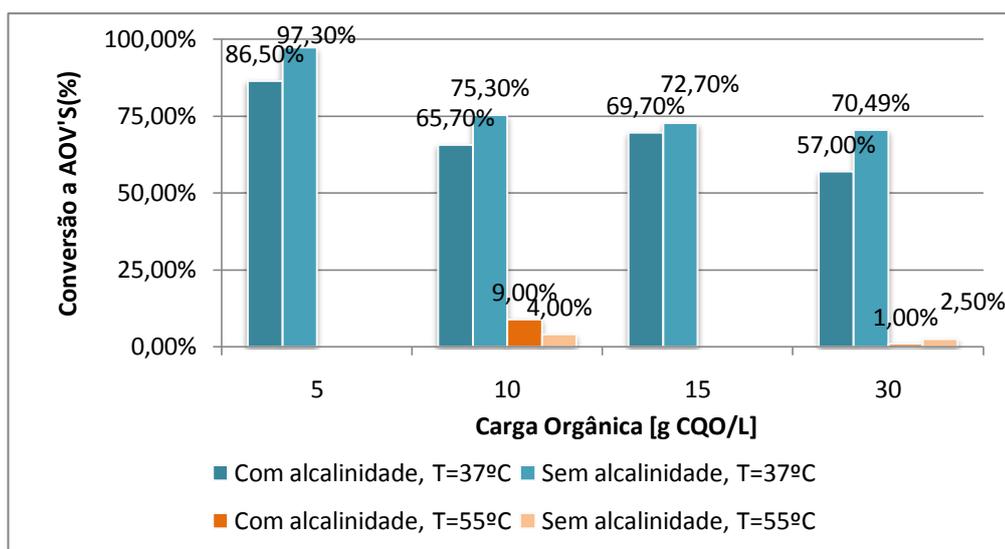
Para a temperatura mesofílica ( $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), a conversão mais elevada está representada no “gráfico c” da figura 45, para a carga de 15 g CQO/L com alcalinidade, na ordem dos 30%. Para a carga de 30 g CQO/L verificou-se uma conversão inferior, aproximadamente de 20%, contudo esta apresenta-se mais constante ao longo do ensaio.

Para a temperatura termofílica ( $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), observa-se nos gráficos das figuras 46,47 e 48 que o aumento da carga orgânica de 10 g CQO/L para 30 g CQO/L provoca a diminuição da conversão de CQO a AOVs (%) para todos os reactores. Verificando-se uma conversão de aproximadamente 20% para a carga de 10 g CQO/L, que se apresenta constante ao longo do ensaio e uma conversão nunca superior a 10% para a carga de 30 g CQO/L. Para ambas as cargas orgânicas aplicadas a esta temperatura ( $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), os reactores que sofreram adição de alcalinidade apresentam, na generalidade do tempo de operação, valores superiores.

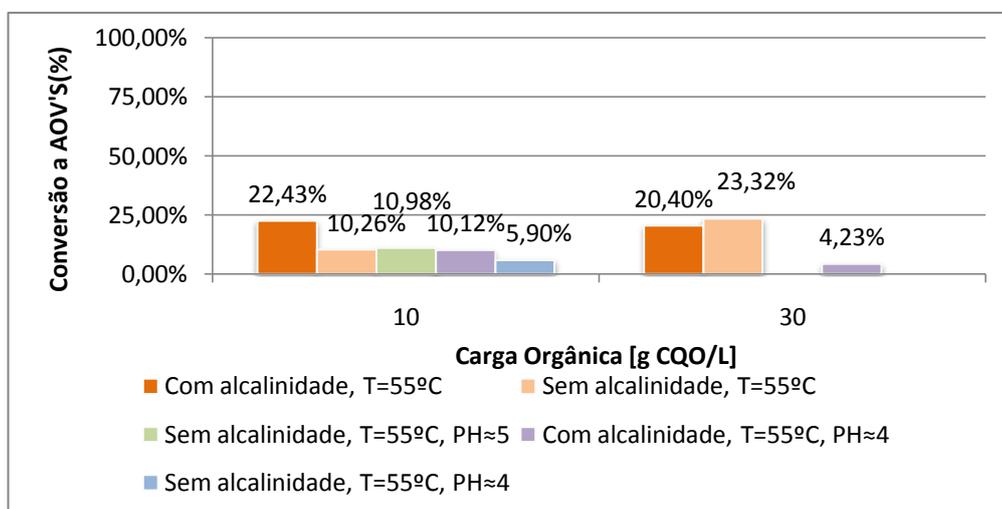
Para os reactores operados com correcção de PH, tanto à carga de 10 g CQO/L, como à de 30 g CQO/L, apresentam constantemente, ao longo dos ensaios, valores inferiores aos seus congéneres, sem a respectiva correcção de PH, como se pode constatar pelos gráficos das figuras 49 e 50.

### Conversão global a AOVs (%)

De seguida, nos gráficos das figuras 49 e 50 apresentam-se os valores de conversão global de CQO inicialmente alimentada a AOVs, em percentagem (%), no fim de cada ensaio para todos os reactores em função das cargas orgânicas aplicadas, diferentes temperaturas, com e sem correcção de PH. Esta conversão global de CQO a AOVs no final de cada ensaio é constituída pela percentagem total de AOVs existentes no reactor nesse momento e pela percentagem de metano formado, dado que este já se encontrou na forma de AOVs.



**Figura 49** – Conversão global de COQ a AOVs (%) no fim de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55 ±1°C (fonte: ISIDORO 2009).



**Figura 50** – Conversão global de COQ a AOVs (%) no fim de cada ensaio para os reactores em função da carga orgânica para as temperaturas de 55 ±1°C.

Nos gráficos das figuras 49 e 50 apresentam-se os valores de conversão global de CQO a AOVs no fim de cada ensaio para os reactores operados em função das cargas orgânicas aplicadas, com e sem adição de alcalinidade, com e sem controlo de PH e para ambas as temperaturas,  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Nos gráficos das figuras 49 e 50 observa-se que existe uma maior conversão global de CQO a AOVs para a temperatura mesofílica,  $37^{\circ}\text{C}$ . Essa conversão é sempre superior a 55%, apresentando o reactor sem alcalinidade com carga de 5 g CQO/L a conversão máxima na ordem dos 97,3%. Verificou-se que à medida que se aumentou a carga orgânica aplicada ao reactor diminui a conversão global a AOVs (%), apresentando o reactor sem alcalinidade uma conversão global sempre superior ao reactor com alcalinidade.

A conversão global de CQO a AOV, para a temperatura termofílica ( $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), verificou-se que para esta temperatura, a diminuição da conversão global a AOVs (%) com aumento da carga orgânica, atingindo valores máximos de aproximadamente 20%. Comparando o perfil dos dois gráficos, observa-se ainda que no gráfico da figura 50, ao contrário do gráfico da figura 49, o reactor operado a 30 g CQO/L e sem alcalinidade apresenta a maior conversão de CQO a AOVs (%), contudo este facto deve-se à diferença do tempo de operação dos reactores, 109 dias para os reactores operados a 10 g CQO/L e 151 dias para os reactores a operados 30 g CQO/L). Sendo assim, seria expectável o mesmo perfil verificado no gráfico da figura 49.

Para os reactores operados com correcção de PH, tanto à carga de 10 g CQO/L, como à de 30 g CQO/L, apresentam constantemente, ao longo dos ensaios, valores inferiores aos seus congéneres sem a respectiva correcção de PH, como se pode constatar pelos gráficos das figuras 51 e 52.

### Conversão global a AOVs (g)

De seguida, nos gráficos das figuras 51 e 52 apresentam-se os valores de conversão global de CQO inicialmente alimentada a AOVs, em massa (g), no fim de cada ensaio para todos os reactores em função das cargas orgânicas aplicadas, diferentes temperaturas, com e sem correcção de PH.

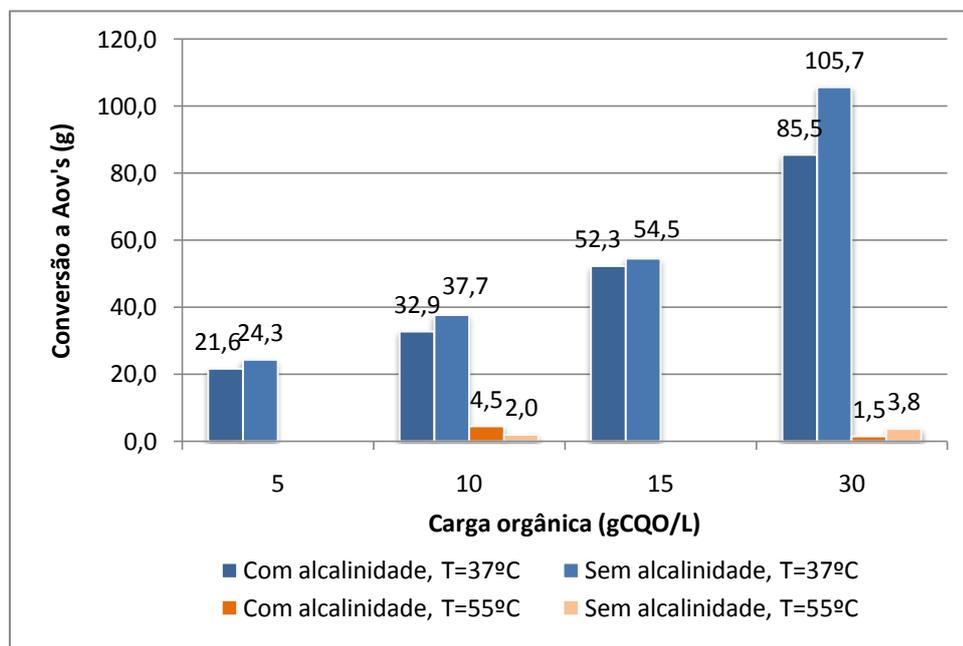


Figura 51 – Conversão global de COQ a AOVs (g) no fim de cada ensaio para os reactores com e sem alcalinidade em função da carga orgânica para as temperaturas de 37 e 55 ±1°C (fonte: ISIDORO 2009).

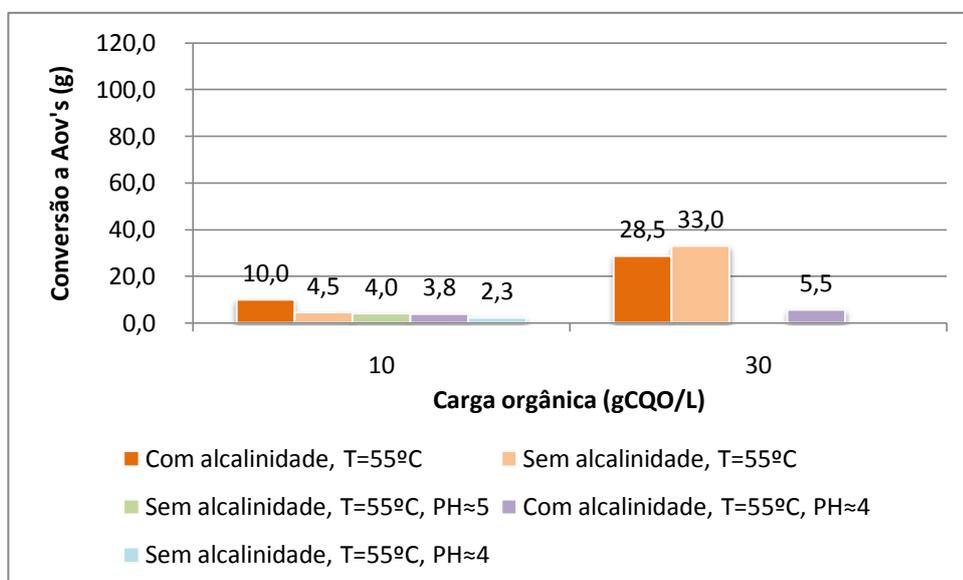


Figura 52 – Conversão global de COQ a AOVs (g) no fim de cada ensaio para os reactores em função da carga orgânica para as temperaturas de 55 ±1°C.

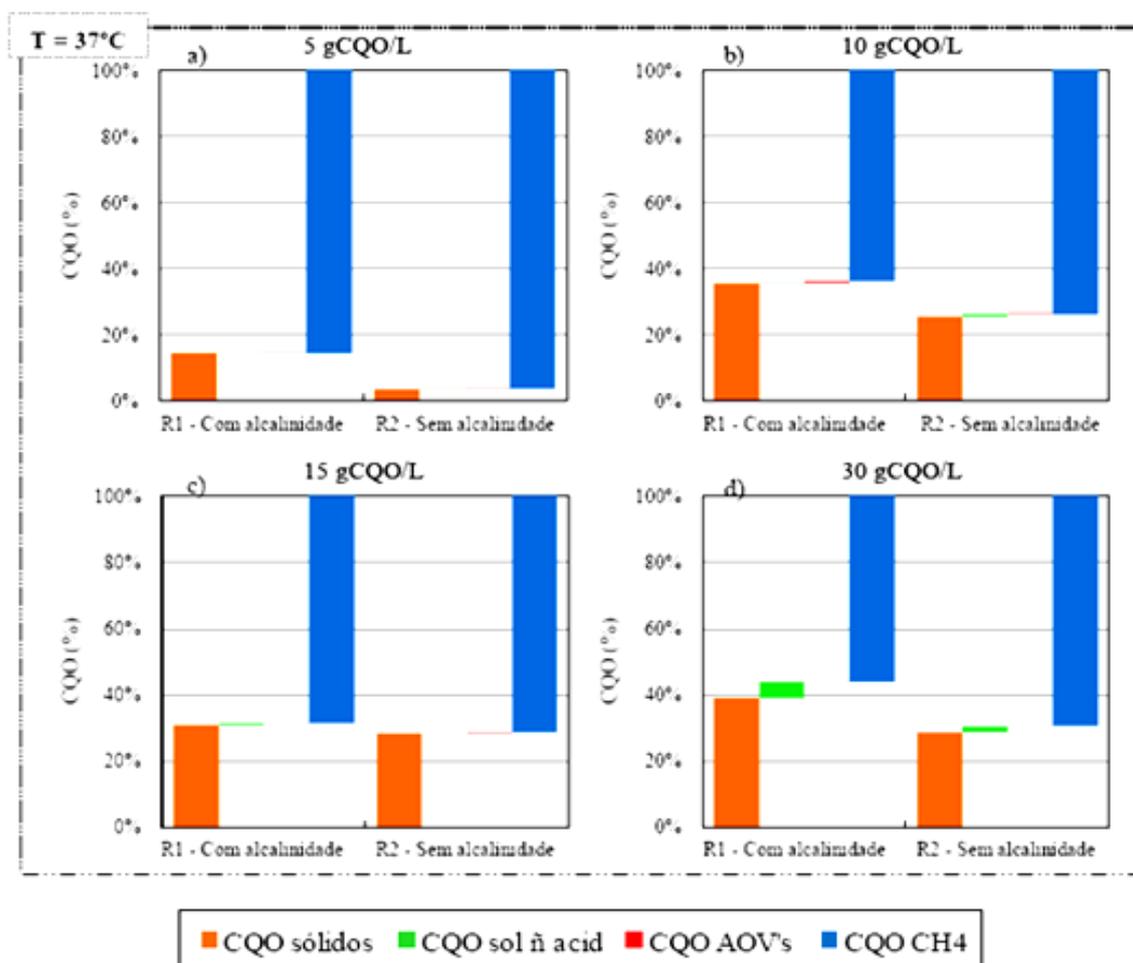
Pelos gráficos das figuras 51 e 52, observa-se claramente que a conversão máxima verificou-se no reactor operado a 30 g CQO/L, sem adição de alcalinidade, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e sem controlo de PH, com aproximadamente 105,7 g da CQO alimentada inicialmente.

Observa-se ainda que, à semelhança da conversão da CQO alimentada inicialmente a metano (figuras 41 e 42), à temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , nas diferentes cargas orgânicas, nomeadamente, 5, 10, 15 e 30 g CQO/L, a conversão global de COQ a AOVs (g) é superior nos reactores operados sem a adição de alcalinidade e é crescentemente superior ao longo das cargas referidas. Para os reactores operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  a conversão global de COQ a AOVs (g) é substancialmente inferior para todas as cargas orgânicas.

De referir que, nesta gama de temperatura ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ), à mesma carga orgânica, especificamente a 30 g CQO/L, verifica-se que houve um aumento de produtividade na ordem dos 90% do trabalho anterior para o actual. De facto, o reactor operado a 30 g CQO/L, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem alcalinidade e sem controlo de PH, a produtividade atingiu apenas os 33,03 g da CQO alimentada inicialmente.

### Conversão global nos diferentes produtos da digestão (%)

De seguida, nos gráficos das figuras 53, 54, 55 e 56 apresentam-se os valores de conversão global de CQO inicialmente alimentada nos diferentes produtos da digestão anaeróbia no final de cada ensaio, para todos os reactores em função das cargas orgânicas aplicadas, diferentes temperaturas, com e sem correcção de PH.



**Figura 53** – Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 37 ±1°C (fonte: ISIDORO 2009).

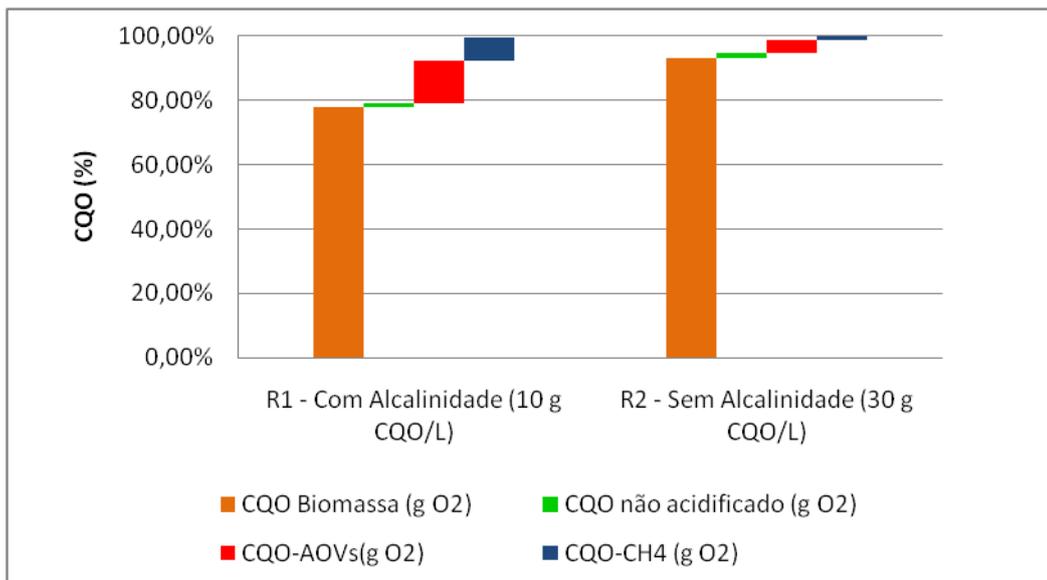


Figura 54 – Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade para a carga orgânica aplicada para as temperaturas de 55 ±1°C (fonte: ISIDORO 2009).

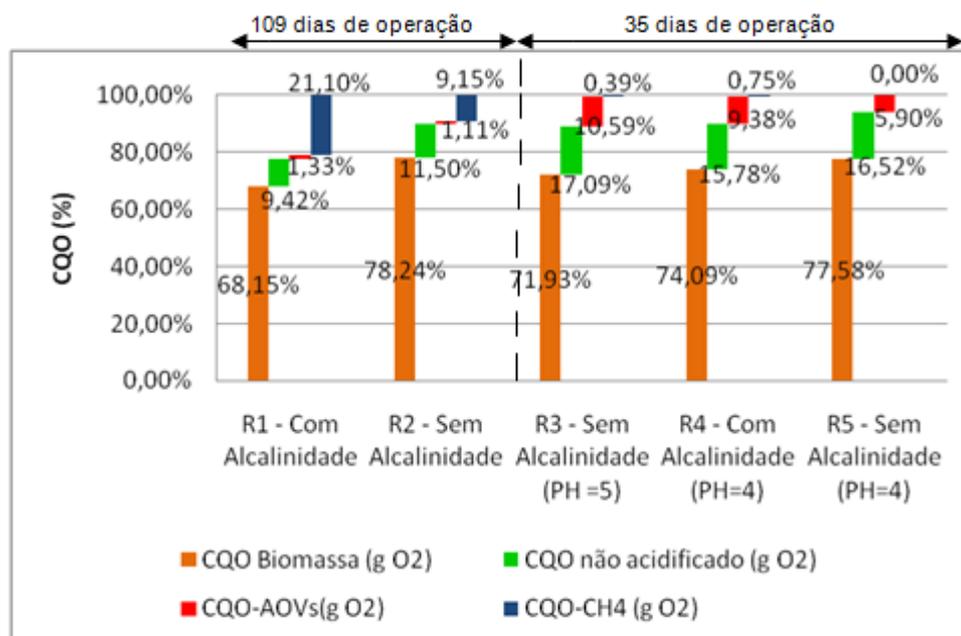
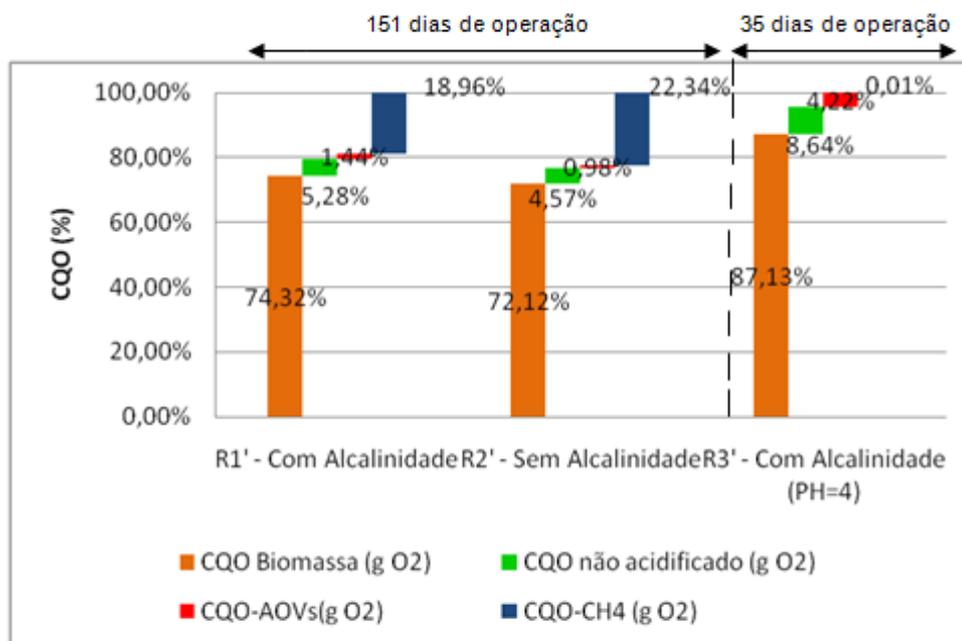


Figura 55 – Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de PH para a carga orgânica de 10 g CQO/L a 55 ±1°C.



**Figura 56** - Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade, com e sem correcção de PH para a carga orgânica de 30 g CQO/L a 55 ±1°C.

Nos gráficos das figuras 53, 54, 55 e 56, apresenta-se a massa de CQO alimentada inicialmente distribuída pelos diferentes produtos da acidificação anaeróbia, pela incorporação na biomassa e pela produção acumulada de metano no final de cada ensaio em função de cada reactor.

Pelo gráfico da figura 53, isto é para reactores operados a 37 ±1°C, e à semelhança do gráfico da figura 43, observou-se que, no final de cada ensaio, grande parte da massa inicialmente alimentada foi transformada a metano e que à medida que a carga orgânica aplicada a cada reactor aumentou, essa percentagem diminui, apresentando para a carga de 5 gCQO/L, aproximadamente 96% da massa de CQO alimentada e para a carga de 30 gCQO/L, 70%.

Verifica-se ainda que, a esta temperatura, os reactores que não sofreram adição de alcalinidade apresentam maior conversão da massa de CQO alimentada inicialmente a metano (%), quando isso não acontece, traduz-se na incorporação da biomassa que, na generalidade dos reactores vai aumentando com o aumento da carga orgânica.

Para finalizar, observou-se também no final do ensaio, a presença de uma percentagem muito reduzida de massa de CQO alimentada inicialmente convertida a AOVs (%) e outra igualmente pequena que se encontrava associada a outros compostos que não sofreram acidificação (%), indicando que a degradação biológica decorreu com elevada extensão, convertendo-se em grande percentagem no seu produto final, em metano (%). De notar, que a 30 g CQO/L há aproximadamente 5% de massa de CQO alimentada inicialmente convertida noutros compostos que não sofreram acidificação, indiciando alguma inibição às cargas orgânicas elevadas.

Para a temperatura de  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , nos gráficos das figuras 54, 55 e 56, verificou-se que, comparando com os reactores operados às mesmas cargas, a 10 e a 30 g CQO/L e a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  no gráfico da figura 53, isto é para os reactores comparáveis nas duas gamas de temperatura, o aumento de temperatura provocou um aumento da percentagem da massa de CQO alimentada inicialmente que se incorporou ou ficou adsorvida na biomassa, no qual a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  nunca chegou a ultrapassar os 40 %, já a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  ultrapassou os 65 %. Verifica-se também que, à semelhança dos reactores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  no gráfico da figura 53, a incorporação da CQO alimentada na biomassa vai aumentando com o aumento da carga orgânica.

De notar que, os reactores operados anteriormente à temperatura de  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  e carga orgânica (figura 54) obtiveram uma incorporação na biomassa substancialmente superior, com valores a ultrapassarem largamente os 78%, justificando-se pelo facto de os ensaios terem sido parados antes do seu término (*Isidoro, C., 2009*), tendo operado durante 52 dias, e a massa de CQO alimentada inicialmente como ainda não tinha sido consumida encontrava-se incorporada na biomassa.

De notar ainda que, pelos gráficos das figuras 55 e 56, comparando os reactores operados no 3º ensaio, com o mesmo período de operação, mais especificamente, os reactores que sofreram correcção de PH, realça-se o reactor operado a 30 g CQO/L pelo facto de, ter mais 13 % da CQO

incorporada/adsorvida na biomassa que os restantes reactores operados a 10 g CQO/L. O mesmo comportamento também se verifica nos ensaios realizados por Isidoro, C., 2009 (figura 56). Podendo-se afirmar, pelo descrito na literatura que, a cargas elevadas e para este tipo de substrato, a degradação biológica fica inibida, deduzindo-se a ocorrência de fenómenos de adsorção de AGCL à parede celular da biomassa.

Para a fracção de massa alimentada que estava transformada em AOVs no final do ensaio, verifica-se como seria de esperar, valores a rondar os 1% para os reactores que foram operados para períodos superiores a 100 dias.

Quanto à fracção que foi transformada em metano é muito inferior, tanto no reactor com e sem alcalinidade à carga de 10 g CQO/L como no reactor com e sem alcalinidade à carga de 30 g CQO/L, quando comparados com os respectivos reactores e cargas à temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , apresentam valores residuais.

A percentagem de massa alimentada que se encontrava, no final do ensaio, associada a produtos não acidificados, isto é, à “CQO não acidificada”, para os reactores que não sofreram correcção de PH, representa uma fracção muito pequena, na ordem dos 1% para os reactores operados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , contudo esta fracção, a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , aumenta aproximadamente 10 % para os reactores operados a 10 g CQO/L e de 5% para os reactores operados a 30 g CQO/L.

Já os reactores que sofreram correcção de PH, operados a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  (ensaio 3º), os valores são substancialmente superiores, aproximadamente 15% a 10 g CQO/L e 10% a 30 g CQO/L. Podendo-se concluir que o acerto de PH inibiu a acidificação no processo de digestão anaeróbia, e de forma mais expressiva nos reactores operados a 10 g CQO/L.

## 9. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho centrou-se na problemática de viabilizar um subproduto da indústria alimentar, como é o caso das lamas gordurosas provenientes da remoção de gorduras, através de um sistema *DAF* – *dissolved air flotation*, de um efluente da indústria de laticínios da região de Aveiro. A execução deste trabalho deu principal importância à influência da alcalinidade, à correcção do PH e à carga orgânica aplicada no processo de optimização da acidificação anaeróbia. Com o trabalho desenvolvido anteriormente por Isidoro C., 2009, foi possível comparar o efeito da temperatura.

Como principais conclusões do trabalho desenvolvido destacam-se as seguintes:

- Cargas orgânicas baixas, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , nomeadamente a 5 g CQO/L e sem adição de alcalinidade beneficiam a *conversão global* da CQO alimentada inicialmente a AOVs (%), bem como a conversão da CQO alimentada inicialmente a  $\text{CH}_4$  (%).
- O aumento da carga orgânica imposta aos reactores, nomeadamente a 30 g CQO/L, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , beneficia a *conversão global* da CQO inicialmente alimentada a AOVs, isto é, beneficia a produção de AOVs em termos mássicos (g);
- Cargas orgânicas elevadas, nomeadamente a 30 gCQO/L, inibiram a produção de metano ( $\text{CH}_4$ ), apresentando uma *fase lag* superior a 100 dias.
- Para as condições testadas, os parâmetros operacionais, a alcalinidade e carga orgânica apresentam pouca influência na *conversão global* da CQO a ácidos orgânicos voláteis totais (AOVs totais) à temperatura termofílica, no entanto à temperatura mesofílica ( $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ) essa influência já se torna relevante para ambos os parâmetros, sendo favorável a ausência de alcalinidade e baixas cargas orgânicas quando se pretende obter maiores rendimentos de conversão da CQO alimentada inicialmente a AOVs (%),

atingindo-se os 97,3% no reactor operado à carga de 5g CQO/L, sem adição de alcalinidade. No mesmo sentido, os mesmos pressupostos adequam-se ao metano.

- Pelo contrário, a cargas orgânicas elevadas, nomeadamente a 30 g CQO/L, mas nas mesmas condições, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  e na ausência de alcalinidade, obtém-se a maior *conversão global* em termos mássicos, com aproximadamente 105,7 gramas da CQO alimentada inicialmente. No mesmo sentido, os mesmos pressupostos adequam-se ao metano.
- Contudo, em oposição ao ponto anterior referente ao parâmetro alcalinidade, constata-se que esta favorece a *conversão instantânea* da CQO a AOVs em todos os reactores.
- Comparando os 3 ensaios, constata-se que, o reactor operado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , a 30 gCQO/L, com alcalinidade apresenta as máximas concentrações instantâneas para todos os AOVs ao longo do ensaio, atingindo o máximo ao 17º dia (figura 29).
- Para a temperatura mesofílica, com o aumento da carga orgânica (de 5 para 30 g CQO/L) verifica-se o aumento da percentagem de CQO alimentada incorporada na biomassa de 14% para 39%, concluindo-se que existe a inibição nas fases iniciais do processo de acidificação, respectivamente, a fase de hidrólise e acidogénese. Este comportamento é igualmente verificado na gama termofílica, na qual a inibição é ainda mais acentuada, com os baixos valores obtidos na fracção que foi transformada a AOVs e  $\text{CH}_4$ , e nos elevados valores da fracção incorporada na biomassa. De facto, a 30 g CQO/L, a temperatura termofílica parece prejudicar a produção de AOVs, bem como, de  $\text{CH}_4$ , pressupondo-se uma forte inibição exercida pelos AGCL.
- A temperatura é uma condição operatória que se reflecte na composição dos AOVs presentes no efluente acidificado. A gama termofílica, ao contrário do ensaio 1º (10gCQO/L), apresenta menor conversão instantânea da CQO a AOVs para o ensaio 2º (30 gCQO/L). Contudo, de forma semelhante nas duas gamas de temperatura, o ácido acético e o

ácido propiónico são os ácidos predominantes, respectivamente como 1º e 2º AOV em maior quantidade;

- Os reactores operados com correcção de PH (ensaio 3º), atingiram valores de concentração na generalidade dos AOVs substancialmente inferiores comparativamente aos reactores dos ensaios 1º e 2º.
- De facto, o acerto de PH, não favorece a generalidade dos AOVs, nem a presença dos AOVs específicos que possibilitam a produção posterior de PHAs, nomeadamente o co-polímero P(HB-HV), com propriedades termoplásticas semelhantes ao polipropileno (Dionisi, D., et al, 2005). Verificou-se efectivamente que, na gama de temperatura operada ( $55 \pm 1^\circ\text{C}$ ), inibiu a acidificação no processo de digestão anaeróbia, de forma mais expressiva para as cargas mais baixas, nomeadamente a 10 g CQO/L.

**Sugestões para trabalho futuro:**

Continuação dos estudos da fermentação acidogénica neste tipo de reactores biológicos, experimentando uma adaptação inicial da biomassa a este substrato complexo, de forma a evitar *fases lag* pronunciadas essencialmente a cargas elevadas.

Operação deste tipo de reactores, alterando as condições de alimentação, nomeadamente através de um regime intermitente, de forma a acompanhar o efeito de adsorção, reduzindo ou eliminando a acumulação de matéria orgânica no leito de lamas, tal como defendido por *Fergala, 1995*.

Alteração das condições hidrodinâmicas, nomeadamente operando com reactores anaeróbios contínuos com recirculação do efluente, por forma a possibilitar uma degradação mais eficiente.

Proceder á monitorização do hidrogénio (H<sub>2</sub>), pois possibilita concluir sobre fases intermédias do processo de digestão anaeróbia.

Identificação de outros intermediários produzidos no processo de acidificação, para além dos ácidos voláteis, tais como álcoois, com vista a outro tipo de valorização deste tipo de substrato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afonso, Everton Dall'Agno (2006). Dossiê Técnico: “Desenvolvimento de produtos de plásticos biodegradáveis”.
- Alves, M.M.S., *Estudo e caracterização de digestores anaeróbios de leito fixo*, Tese de doutoramento, Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, 1998.
- Alves, M.M.S., *Processos químicos de tratamento de efluentes*, Universidade do Minho, 2003
- Angelidaki I, Ahring BK. Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1992;37: 808–12.
- Angelidaki, I. e Sanders, W. (2004) Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3, pp. 117–129.
- Annachhatre, A. (1996). Anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Resources, Conservation and Recycling*, 16, p161-166.
- A.M. Reis, C. Lemus, S. Serafim (2008). Produção de bioplásticos por culturas microbianas mistas.
- A.M. Reis, Marta Eiroa, Maria G.E. Albuquerque (2007). 9ª Conferência Nacional do Ambiente - Bioconversão de um sub-produto da indústria alimentar para a produção de bioplásticos e hidrogénio.
- Alves M.M., Pereira M.A. (2005). Digestão anaeróbia de gorduras : problemas e soluções.

- APHA, (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 ed. McGraw-Hill International Editions, New York.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreve, J. e Dewil, R. (2008) Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. Progress in Energy and Combustion Science, 34, p. 755 – 781.
- Attal A., Ehlinger F., Audic J. M., Faup G. M. (1986). Anaerobic fermentation at low pH: glucose and intermediate products degradation kinetics. Aquatech.86, 12, p. 63-75.
- Averous,L. (2002) Etude de systèmes polymers multiphases: approche des relations matériaux-procédés-propriétés. Habilitation à diriger des recherches, Reims, Université de Reims,Champagne-Ardenne.
- Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhny, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., Sanders, W. T. M., Siegrist, H. and Vavilin, V. A. (2002) Anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). IWA Publishing, Londres, Reino Unido.
- Batstone, D. J., Pind, P. F. e Angelidaki, I. (2003) Kinetics of thermophilic, anaerobic oxidation of straight and branched chain butyrate and valerate. Biotechnology and Bioengineering, 84, (2), p. 195-204.
- Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M., Welander, T. (2007) Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. Bioresource Technology, 99, p.509–516.
- Bhattacharyya J., Kumar S., Devotta S. (2008) Studies on acidification in two-phase biomethanation process of municipal solid waste. Waste Management, 28, p.164-169.

Biby, G.D.(2002). Degradable plastics: <http://www.icma.com/inf/polymers.htm>.

Braunegg, G., Lefebvre, G. and Genser, K.F. (1998) 'Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: Physiological and engineering aspects', *Journal of Biotechnology*, Vol. 65, No. 2-3, pp. 127-161.

Britz, T.J.a.C., van Schalkwyk, C., Hung, Y.-T., 2006. Treatment of dairy processing wastewaters. in: L.K. Wang, Y.-T. Hung, H.H. Lo, C. Yapijakis (Eds.), *Waste treatment in the food processing industry*. CRC Press, E.U.A., pp. 1-28.

Choi E., Burkhead, C.E., (1984). *Anaerobic treatment of dairy wastes using fixed-film and without media reactors*, Proc. 39<sup>th</sup> Purdue Univ. Ind. Waste Conf., p223-233.

Choi J., Lee S. Y. (2000). Economic considerations in the production of poly(3-hydroxybutirate-cohydroxyvalerate) by bacterial fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 53, p. 646-649.

Danalewich, J.R., Papagiannis, T.G., Belyea, R.L., Tumbleson, M.E., Raskin, L., 1998. Characterization of dairy waste streams, current treatment practices, and potential for biological nutrient removal. *Water Research*, 32, 3555-3568.

Daniel K. Y. Solaiman., Richard D. Ashby, Thomas A. Foglia, William N. Marmer (2006). Conversion of agricultural feedstock and coproducts into poly(hydroxyalkanoates).

De Bok, F. A. M., Plugge, C. M. e Stams, A. J. M. (2004) Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia. *Water Research*, 38, p. 1368-1375.

- De Haast, J., Britz, T. e Novello, J. (1984). The management of waste water in the milk processing industry. *South African journal of dairy technology* 16(2):67-73.
- Demirel, B. e Scherer, P. (2008). The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Reviews in Environmental Science Biotechnology*, 7, (2), pp. 1569-1705.
- Dionisi, D., Majone, M., Papa, V., Beccari, M., (2004). Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding. *Biotechnol. Bioeng.* 85 (6), 569–579.
- Dionisi, D., Carucci G., Papini M., Riccardi C., Majone M., Carrasco F. (2005). Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Research*, 39, p. 2076-2084.
- DGE – Direcção Geral de Energia, Guia técnico do biogás (2000) CCE - Centro para a conservação de energia, Algés.
- Duarte, A.C., Oliveira, F.M.M., 1984. Laboratory study of dairy effluent treatment by the rotating biological disc system. *Environmental Technology Letters*, 55, 283-288.
- El-Mashad, H. M., Zeeman, G., van Loon, W. K. P., Bot, G. P. A. e Lettinga, G. (2004) Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure. *Bioresource Technology*, 95, (2), pp. 191–201.
- EPA (2000). Environmental fact sheet municipal solid waste generation, recycling and disposal in the United States: facts and figures for 1998.
- Fang H. H. P., Liu H. (2002). Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture *Bioresource Technology*, 82, p. 87-93.

- Fergala, M. (1995). The anaerobic treatment of complex wastewater. Ph.D. Thesis. Van Hall Institute, Groningen, The Netherlands.
- Fuentes M., Scenna N., Aguirre P.; Mussati M. (2008) Application of two anaerobic digestion models to biofilm systems. *Biochemical Engineering Journal*, 38, p.259-269.
- Ghaly, A., (1989). *Biogas production from acid cheese whey using a two-stage digester*. *Energy Sources*, 11, p.237-250.
- Gomes, A., Pintado, M., Malcata, X., 2008. Conhecer a importância do leite na nutrição humana Leite I+D+T. Associação Nacional dos Industriais de Lacticínios, pp. 2-4.
- Grady, C.P.L., Daigger, G.T., Lim, H.C. (1999). *Biological wastewater treatment*, 2<sup>nd</sup> edition; Mareei Dekker, Inc., NewYork.
- Guilbert, S. (2000) Potencial of the protein based biomaterials for the food industry. Food Biopack conference, Copenhagen. Copenhagen, Dinmark, 81-83.
- Gutiérrez, J.L.R., Encina, P.A.G., Fdz-Polanco, F., 1991. Anaerobic treatment of cheese production wastewater using a UASB reactor. *Bioresource Technology*, 37, 271-276.
- Guwy, A. J., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L. e Rozzi, A. G. (1997) Hydrogen production in a high rate fluidised bed anaerobic digester. *Water Research*, 31, (6), p. 1291-1298.

- Haridas, A., Suresh, S., Chitra, K.R., Manilal, V.B., 2005. The Buoyant Filter Bioreactor: a high-rate anaerobic reactor for complex wastewater - process dynamics with dairy effluent. *Water Research*, 39, 993-1004.
- Harper, S.R. and Pohland, F.G. (1986). Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 585–602.
- Henze, M., Harremões, P. (1983). *Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors. A literature review*, Water Science and Technology, Copenhagen, vol. 15, p1-101.
- Horiuchi J.-I., Shimizu T., Tada K., Kanno T., Kobayashi M. (2002). Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technology*, 82, p.209-213.
- Hui, Y. (ed) (1992). *Encyclopedia of Food Science and Technology*, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Igoni, A. H., Ayotamuno, M. J., Eze, C. L., Ogaji, S. O. T. e Probert, S. D. (2008) Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy*, 85, (6), pp. 430–438.
- INE (2006). *Inquérito à estrutura das explorações agrícolas 2005*. Edição: Lisboa, Instituto Nacional de Estatística, ISBN 972-673-846-6.
- INE (2007). *Anuário Estatístico de Portugal 2006*. Edição: Lisboa, Instituto Nacional de Estatística, ISBN 978-972-673-898-5.
- INETI (2001). *Guia técnico - Indústria dos lacticínios*, Lisboa.

- Isidoro, C., (2009). Fermentação acidogénica para produção de substratos de biopolímeros
- Iza, J., Colleran, E., Paris, J., Wu, W.-M. (1991) *International workshop on anaerobic treatment technology for municipal and industrial wastewaters: summary paper.*, Water Science and Technology, 24(8), p1-16.
- Johnstone, R. (1990). A throw away answer. *Far Eastern Econ. Rev.* 107(46): 62-63.
- Kelleher, B. P., Leahy, J. J., Henihan, A. M., O'Dwyer, T. F., Sutton, D. e Leahy, M. J. (2000) Advances in poultry litter disposal technology – a review. *Bioresource Technology*, 83, (1), p. 27–36.
- Kim M., Ahn Y., Speece R. E. (2002). Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion: mesophilic vs. thermophilic. *Water Research*, 36, p. 4369-4385.
- Kirk-Othmer (eds) (1995). *Encyclopedia of chemical technology*, 4<sup>th</sup> Edition, Wiley Interscience, 16:700-746.
- Kissalita, W.S., Lo, K.V., Pinder, K.L., (1989). *Influence of dilution rate on the acidogenic phase products distribution during two-phase lactose anaerobiosis*, *Biotechnology and Bioengineering*, 34, p.1235-1250.
- Koster IW, Cramer A. Inhibition of methanogenesis from acetate in granular sludge by long chain fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology* 1987;53:403–9.
- Lafferty, R.M., Korsatko, B., Korsatko, W. (1988). Microbial production of poly- $\beta$ -hydroxybutyric acid. In: Rehm, H.J. and Reed, G. (Eds.), *Biotechnology*, 6B, *Special Microbial Processes*, Weinheim, UCH, pp. 136-176.

- Lee, S.Y. (1996a). Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoate production in bacteria. *Trends Biotechnol.* 14: 431-438.
- Lemoigne, M. (1926). Produits de dehydration et de polymerisation de l'acide  $\beta$ oxobutyrique. *Bull Soc Chim Biol*, 8, 770–782.
- Lettinga, G., van Velsen, A. F. M., Hobma S.W., de Zeeuw W., Klapwijk A. (1980). Use of upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment, *Biotechnology and Bioengineering*, 22, p699-734.
- Lu, J., Gavala, H.N., Skiadas, I.V., Mladenovska, Z., Ahring, B.K., (2007). Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a hyperthermophilic prehydrolysis step. *Journal of Environmental Management*, doi:10.1016/j.jenvman.2007.04.020.
- Luengo, J. M., García, B., Sandoval, A., Naharro, G., Olivera, E. R. (2003). Bioplastics from microorganisms. *Current Opinion in Microbiology*, 6, 251–260.
- Lawrence, A.A., (1971). *Application of process kinetics to design of anaerobic process*. *Adv. Chem. Ser*, 105, p163-189.
- Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ. (1993). *Powdered milk. Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. London: Academic Press 6 3700-13.
- MADRP-GPP (2007). Leite e laticínios – diagnóstico sectorial. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas – Gabinete de Planeamento e Políticas. Disponível em <http://www.gppaa.min-agricultura.pt/pbl/diagnosticos>.

Man, Bekker (1986). New technology in dairy wastewater treatment, Dairy Industries International.

Mara, D. e Horan, N. (2003) The handbook of water and wastewater microbiology, Academic Press, University of Leeds, Reino Unido.

Maria G.E. Albuquerque, Marta Eiroa, Maria A.M. Reis (2007). Bioconversão de um sub-produto da indústria alimentar para produção de bioplásticos e hidrogénio.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2000. Brock Biology of Microorganisms, Prentice- Hall International Editions, Upper Saddle River.

Masse L, Masse DI, Kennedy KJ. Effect of hydrolysis pretreatment on fat degradation during anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater. Process Biochemistry 2003;38:1365–72.

Martinelle, M., Hult, K., (1994) Kinetics of triglyceride lipases. in Woolley, S. (Ed.), Lipases. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 363.

McCarty P. L., (1964) Anaerobic waste treatment fundamentals – part one: chemistry and microbiology; part two: environmental requirements and control, part three: toxic materials and their control, part four: process design, Public Works.

McHugh, S., O`Reilley, C., Mahony, T., Colleran, E. e O`Flaherty, V. (2003) Anaerobic granular sludge bioreactor technology. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2, (2-4), p. 225–245.

McInerney, M. J. e Bryant, M. P. (1981) Anaerobic Degradation of Lactate by Syntrophic Associations of Methanosarcina barkeri and Desulfovibrio Species

and Effect of H<sub>2</sub> on Acetate Degradation. *Applied Environmental Microbiology*, 41, (2), pp. 346-354.

McInerney, M. J., 1988. Anaerobic hydrolysis and fermentation of fats. in Zehnder, (Ed.), *Biology of Anaerobic Microorganisms*. Wiley, New York, pp. 872.

McInerney M. J. (1999) Anaerobic metabolism and its regulation. in Rehm H.J. e Reed G. eds (1999) *Biotechnology, Vol. 11a Environmental Processes I – Wastewater Treatment*, Wiley- VCH, p.456-491.

McMahon, K. D., Stroot, P. G., Mackie, R. I. e Raskin, L. (2001) Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions- II: Microbial population dynamics. *Water Research*, 35, (7), pp. 1817-1827.

Miron, Y., Zeeman, G., Van Lier, J. B. e Lettinga, G. (2000) The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems. *Water Research*, 34, (5), pp. 1705-1713.

Moosbrugger, R. E., Wentzel, M. C., Ekama, G. A. e Marais, G. v. R. (1993) A 5 pH point titration method for determining the carbonate and SCFA weak acid/bases in anaerobic systems. *Water Science and Technology*, 28, (2), pp. 237-245.

Nadais, H., (2002). *Tratamento de Efluentes de Industrias de Lactínicos em reactores UASB com funcionamento intermitente*. Tese de Doutoramento, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

Nemerow, N. (1971). *Liquid waste of industry, theories, practices & treatment*. Addison-Wesley Publishing Company, Inc.

Nielsen, H. B., Uellendahl, H. e Ahring, B. K. (2007) Regulation and optimization of the biogas process: Propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy*, 31, (11-12), pp. 820–830.

Nysten, R. (1981). Les eaux résiduaires dês laiteries. La technique de l'eau et de l'assainissement, 411:19-26.

NP 572, (1981). Leite. Definição e classificação.

O.Flaherty V., Collins G., Mahony T. (2006). The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 5, p.39-55.

Oh., S. T., Alastair D. Martin (2009). Long chain fatty acids degradation in anaerobic digester: Thermodynamic equilibrium consideration.

Othof, M., Oleszkiewicz, J.A. (1983). *Anaembic treatment of industrial wastewaters*, Process Technology and Flowsheets, Voí 2. Chemical Engineering, McGraw-Hill, 242-247.

Öztürk, I., Eroglu, V., Ubay, G., Demir, I., 1993. Hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor (HUASBR) treatment of dairy effluents. *Water Science and Technology*, 28, 77-85.

Parawira, W., Murto, M., Read, J. S. e Mattiasson, B. (2005) Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochemistry*, 40, (9), p. 2945-2952.

Passeggi, M., López, I., Borzacconi, L., 2009. Integrated anaerobic treatment of dairy industrial wastewater and sludge. *Water Science and Technology*, 59, 501-506.

Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetic of anaerobic treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Control* 21 (5), 411–490.

Pind, P. F., Angelidaki, I. e Ahring, B. K. (2003a) Dynamics of the anaerobic process: Effects of volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering*, 82, (7), p. 791-801.

Pind, P. F., Angelidaki, I., Ahring, B. K., Stamatelatou, K. e Lyberatos, G. (2003b) Monitoring and control of anaerobic reactors. Pp. 135-182, in Ahring, B. K. (ed.) *Biomethanation II*. Springer, Berlim.

Platt, D.K. and Rapra Technology Limited. (2006) *Biodegradable polymers: market report*. Rapra Technology, Shrewsbury, Shropshire, U.K.

Pohland F. (1992). *Anaerobic treatment: fundamental concepts, applications and new horizons*. Em Malina J., Pohland F. *Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Pensilvânia; EUA. ISBN 87762-942-0. Volume 7.

Pucal, A. (2000). *Strategies for start-up, operation and control of anaerobic digesters*. Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Espanha.

Raymond Chang (1994). *Química* 5ª edição.

Reddy, C. S. K., Ghai, R., Rashmi, Kalia, V. C. (2003). Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology*, 87, 137–146.

Rico, J.L., Garcia, P., Fdz-Polanco, F., *Anaerobic treatment of cheese production wastewater using a UASB reactor*, *Bioresource Technology*, 37,271-276, 1991.

- Riggle, D. (1998). Acceptance improves for large – scale anaerobic digestion. *Biocycle*, june, 51-55.
- Rodriguez, J., Kleerebezem, R., Lema, J. M. e Van Loosdrecht, M. C. M. (2006) Modeling product formation in anaerobic mixed culture fermentations. *Biotechnology and Bioengineering*, 93, (3), p. 592-606.
- Salmiati, Z., Ujang, M.R., Salim, M.F., Ahmad, M.A. (2007). Intracellular biopolymer productions using mixed microbial cultures from fermented POME. *Water Science and Technology*, 56, 8, p.179–185.
- Schneider, I., Topalova, Y., 2009. Structural and functional changes in river microbial communities after dairy wastewater discharge. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23, 1210-1216.
- Schink, B. (1997) Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61, (2), pp. 262-280.
- Schnurer, A., Zellner, G. e Svensson, B. H. (1999) Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors. *FEMS Microbial Ecology*, 29, (3), pp. 249-261.
- Schulz, S., Matsuyama, H., e Conrad, R. (1997) Temperature dependence of methane production from different precursors in a profundal sediment (Lake Constance). *FEMS Microbiology Ecology*, 22, (3), pp. 207-213.
- Smith, R. (2005) *Biodegradable polymers for industrial applicatons*. New York, Woodhead publishing limited.

- Solaiman, D. K. Y., Ashby, R. D., Foglia, T. A., Marmer, W. N. (2006). Conversion of agricultural feedstock and coproducts into poly(hydroxyalkanoates). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 783–789.
- Solera R., Romero L., Sales D. (2002) The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up. *Chem. Biochem. Eng.*, 16, 1, p.25-29.
- Speece, R. E. (1983) Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Science & Technology*, 17, (9), pp. 416A-427A.
- Stroot, P. G., McMahon, K. D., Mackie, R. I. e Raskin, L. (2001) Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions - I. digester performance. *Water Research*, 35, (7), pp. 1804-1816.
- Switzenbaum, M. (1995). Obstacles in the implementation of anaerobic treatment technology. *Bioresource Technology* 53:255-262.
- Talbot, R. (1992). Optimizing dairy wastewater treatment using biological equalization. *Proc. 1992 Food Industry Environmental Conference*, p.403-410.
- Thauer, R. K., Jungermann, K. e Decker, K. (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 41, (1), pp. 100-180.
- Van den Berg, L. (1977). *Effect of temperature on growth and activity of a methanogenic culture utilizing acetate*, *Canadian Journal Microbiology*, vol. 23. p898-902.
- Van Lier, J. B. (1995) Thermophilic anaerobic wastewater treatment; Temperature aspects and process stability. Tese de dissertação de doutoramento, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Holanda.

- Van Lier, J.B., Rebac, S., Lens, P., van Bijnen, F., Stefanie, J.W., Elferirik, H.O., Stams, A.J.M., Lettinga, G. (1997). *Anaerobic treatment of partly acidified wastewater in a two-stage expanded granular sludge bed (EGSB) system*, *Water Science and Technology*, 36(6-7), p317-324.
- Van Lier, J., Tilche, A., Ahring, B., Macarie, H., Moletta, R., Dohanyos, M., Hulshoff Pol, L., Lens, P., Versfraete, W. (2001). *New perspectives in anaerobic digestion*, *Water Science and Technology*, 43(1), p1-18.
- Van Tuil, R., Fowler, P., Lawther, M., Weber, C.J. (2000). Properties of biobased packaging materials. In: C.J. Weber (Ed.), *Biobased packaging materials for the food industry status and perspectives*. Food Biopack Project, pp. 13-44.
- Vavilin, V. A., Rytov, S. V. e Lokshina, L. Y. (1995) Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria, *Bioresource Technology*, 54, (2), p. 171-177.
- Vavilin, V. A., Rytov, S. V. e Lokshina, L. Y. (1996) A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. *Bioresource Technology*, 56, (2-3), pp. 229-237.
- Vavilin, V. A., Lokshina, L. Y., Rytov, S. V., Kotsyurbenko, O. R., Nozhevnikova, A. N. e Parshina, S. N. (1997) Modelling methanogenesis during anaerobic conversion of complex organic matter at low temperatures. *Water Science and Technology*, 36, (6-7), pp. 531-538.
- Vavilin, V. A. e Angelidaki, I. (2005) Anaerobic degradation of solid material: Importance of initiation centers for methanogenesis, mixing intensity, and 2D distributed model. *Biotechnology and Bioengineering*, 89, (1), pp. 113-122.

- Vavilin, V. A., Fernandez, B., Palatsi, J. e Flotats, X. (2008) Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. *Waste Management*, 28, (6), p. 939–951.
- Ward, A. J., Hobbs, P. J., Hollimen, P. J., Jones, D. L. (2008) Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, 99, (17), pp. 7928–7940.
- Wheatland, A. (1974). Treatment of waste waters from dairies and dairy - product factories -methods and systems. *Journal of the Society of Dairy Technology*.
- Williams, S.F., Martin, D.P. (2002). Applications of PHAs in Medicine and Pharmacy. In: A. Steinbüchel, Y. Doi (Eds.), *Biopolymers Vol. 4: Polyesters III - Applications and Commercial Products*, Wiley-VCH, Weinheim, 91-128.
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2001). Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters. *Water Research*, 35, N. 15, p. 3697-3705.
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2002a). Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. *Water Science and Technology*, 45, N. 10, p. 201-206.
- Yu H. Q., Fang H. H. P., Gu, G. (2002b). Comparative performance of mesophilic and thermophilic acidogenic upflow reactors. *Process Biochemistry*, 38, p. 447-454.
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2003). Acidogenesis of gelatine-rich wastewater an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. *Water Research*, 37, p. 55-66.
- Zinder, S. H. and Korch, M. (1984) Non-aceticlastic methanogenesis from acetate: Acetate oxidation by a thermophilic syntrophic coculture. *Archives of Microbiology*, 138, pp. 263-272.

Zinn, M., Witholt, B., Egli, T. (2001). Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate.

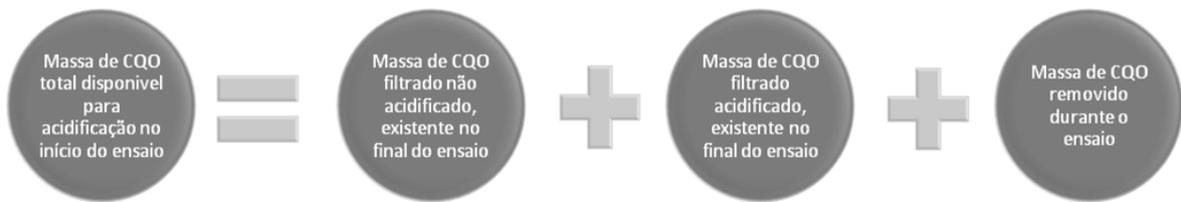
Zoetemeyer R. J., Matthijsen A. J. C. M., Van den Heuvel J. C., Cohen A., Boelhouwer C. (1982a). Anaerobic acidification of glucose in an upflow. *Biomass*, 2, p. 187-199.

Zoetemeyer R. J, Van den Heuvel J. C., Cohen A. (1982b). pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Water Research*, 16, p. 303-311.

## ANEXOS

### ANEXO I - Balanço mássico da CQO

O balanço mássico inerente ao processo de digestão anaeróbia pode ser descrito da seguinte forma:



$$CQO_{t\text{ in}} \cdot V_{\text{reactor}} = (CQO_{\text{s final}} - CQO_{\text{AOV final}}) \cdot V_{\text{reactor}} + CQO_{\text{AOV final}} \cdot V_{\text{reactor}} + (CQO_{t\text{ in}} - CQO_{\text{s final}}) \cdot V_{\text{reactor}}$$

Equivalente a:



Com:

$$CQO_{\text{Biomassa}} = CQO_{t\text{ in}} - (CQO_{n\text{ acidificada}} + CQO_{\text{AOV's}} + CQO_{\text{CH}_4})$$

**Formulário:**

$$CQO - CH_4(g) = \frac{n_{CH_4}(Kmol)}{1000} (mol) \times 2 \times 32 \left( \frac{g}{mol} \right)$$

$$E_M (\%) = \frac{CQO - CH_4(g)}{\left( CQO_{T, \text{alimentação}} \times \frac{\% \text{Remoção}}{100} \times V_{\text{alimentação}} \right) (g)} \times 100$$

$$CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O$$

$$n_{CH_4}(Kmol) = \frac{V_{CH_4}(m^3) \times 101325(Pa)}{8314 \left( \frac{J}{Kmol} \right) \times (35 + 273)(K)}$$

$$E_R (\%) = \frac{CQO_{T, \text{alimentação}} - (CQO_{s, \text{sh}})_{\text{efluente}}}{CQO_{T, \text{alimentação}}} \times 100$$

$$\text{Conversão Global AOVs (\%)} = CQO_{CH_4} + CQO_{AOV\text{s final}}$$

$$\text{Grau\_acidificação (\%)} = \frac{\sum CQO - AOV(gO_2/L)}{CQO_{s, \text{entrada}}(gO_2/L)} \times 100\%$$

## ANEXO II - Factores de conversão da CQO inicial a CQO AOVs

Os factores de conversão que relacionam a concentração individual de cada ácido orgânico volátil com o valor equivalente em termos de CQO ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ), carbono ( $\text{mg C L}^{-1}$ ) e ácido acético ( $\text{mg AAc L}^{-1}$ ) estão apresentados na tabela 24, que tem por base a estequiometria das equações que traduzem a oxidação dos AOVs.

Exemplo:

### Ácido acético



Da equação vem que 1 mol de ác. acético corresponde a um CQO de 64 g.

**Tabela 33** - Factores de conversão para ácidos orgânicos voláteis (adaptado de Yilmaz & Demirer, 2008; Alexiou, 1998).

AOV	Massa Molar [g/mol]	g de CQO	CQO equivalente (CQO AOV)	Carbono equivalente (C AOV)	Ácido acético equivalente AOV
Ácido acético	60	64	1,066	0,4000	1,00
Ácido propiónico	74	112	1,512	0,4865	1,23
Ácido butírico	88	160	1,816	0,5455	1,47
Ácido valérico	102	208	2,036	0,5882	1,70
Ácido caproico	114	240	2,204	0,6207	1,93

A conversão da concentração total de ácidos orgânicos voláteis foi realizada de acordo com as expressões:

$$\text{CQOAOV} = 1,066 * [\text{Ácido acético}] + 1,512 * [\text{Ácido propiónico}] + 1,816 * [\text{Ácido butírico}] + 2,036 * [\text{Ácido valérico}] + 2,204 * [\text{Ácido valérico}]$$

Sendo:

- CQO AOV = concentração equivalente de ácidos orgânicos voláteis em termos de CQO ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ )

- [Ácido i] = concentração de ácido orgânico volátil i (i=acético,..., butírico) (mg L<sup>-1</sup>)

$$C \text{ AOV} = 0,400 * [\text{Ácido acético}] + 0,4865 * [\text{Ácido propiónico}] + 0,5455 * [\text{Ácido butírico}] + 0,5882 * [\text{Ácido valérico}] + 0,6207 * [\text{Ácido valérico}]$$

Sendo:

- C AOV = concentração equivalente de ácidos orgânicos voláteis em termos de carbono (mg C L<sup>-1</sup>)
- [Ácido i] = concentração de ácido orgânico volátil i (i=acético,..., butírico) (mg L<sup>-1</sup>)

$$\text{AOV} = \text{Ácido acético} / 1,00 + \text{Ácido propiónico} / 1,23 + [\text{Ácido butírico}] / 1,47 + [\text{Ácido valérico}] / 1,70 + [\text{Ácido valérico}] / 1,93$$

Sendo:

- AOV = concentração equivalente de ácidos orgânicos voláteis em termos de ácido acético (mg AAc L<sup>-1</sup>)
- [Ácido i] = concentração de ácido orgânico volátil i (i=acético,..., valérico) (mg L<sup>-1</sup>)