



**Vânia Raquel Heitor Ferro**

Licenciatura em Ciências de Engenharia do Ambiente

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO EXPEDITO  
PARA AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DO  
COURO**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia do Ambiente, perfil de Engenharia Sanitária

Orientador: Professora Doutora Ana Isabel Espinha da Silveira  
Professora Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria da Graça Madeira Martinho  
Arguente: Prof. Doutor Paulo Alexandre da Costa Lemos  
Vogal: Prof. Doutora Ana Isabel Espinha da Silveira



## **DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO EXPEDITO PARA AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE DO COURO**

© Copyright, 2013, Vânia Raquel Heitor Ferro, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa e Universidade Nova de Lisboa. Todos os direitos reservados.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.





“O maior líder é aquele que reconhece a sua pequenez, extrai força da sua humildade e experiência da fragilidade.”

**Augusto Cury**

“A natureza reservou para si tanta liberdade que não a podemos nunca penetrar completamente com o nosso saber e a nossa ciência.”

**Johann Goethe**



*À minha mãe Teresa  
À memória do meu avô António*



## AGRADECIMENTOS

A elaboração desta dissertação, só foi possível graças ao apoio de um conjunto de pessoas, que de forma directa ou indirecta contribuíram para a sua realização, e em relação às quais quero expressar o meu profundo agradecimento.

Em primeiro lugar, agradeço à minha orientadora, Professora Doutora Ana Silveira não só pelo apoio, disponibilidade e sugestões fornecidas, mas também pelo conhecimento transmitido e horas de discussão que se revelaram fundamentais para a elaboração deste trabalho.

Quero também agradecer à Eng.<sup>a</sup> Maria José Correia e ao Eng.º Luís Carita pela amizade, boa disposição, paciência e disponibilidade concedidas ao longo do trabalho laboratorial.

À empresa António Nunes de Carvalho S.A., nas pessoas do Sr. Luís Carvalho e da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, pelo fornecimento do material de estudo, pela possibilidade de visita à instalação e pelos esclarecimentos e disponibilidade demonstrados.

Ao Centro Tecnológico das Indústrias do Couro (CTIC), nas pessoas do Eng.º Filipe Crispim e do Eng.º Joaquim Gaião, pela visita concedida e pelas explicações e informações fornecidas.

Ao Professor Doutor Rui Oliveira e aos colegas Cristiana Azevedo e Moritz van Stosch, do departamento de Química, pela disponibilidade, auxílio e sugestões na formulação dos modelos aplicados nesta dissertação.

Aos meus amigos, os que partilharam a vida académica e os restantes que partilharam tantos outros momentos importantes. Obrigada pelos momentos de descontração, pelo apoio e motivação e, particularmente, por colaborarem todos os dias para a minha formação enquanto pessoa.

Ao Pedro, companheiro, amigo e colega, por ter sido o meu pilar e por me ter acompanhado sempre ao longo da vida académica. As palavras jamais serão suficientes para te agradecer o afecto, apoio incondicional, estabilidade e paciência necessários para a conclusão deste capítulo das nossas vidas.

À minha família, por serem a base da minha educação e do meu sucesso. À minha mãe e ao meu irmão, por serem os meus exemplos de determinação e coragem, por sempre me terem orientado e incentivado, por me deliciarem com bons momentos de união familiar e, principalmente, pela importante contribuição na minha formação e realização pessoal. Ao meu pai, por todo o apoio e preocupação que demonstra, mesmo com a distância que nos separa. Aos meus pequeninos, Carolina e Miguel, por me fazerem sorrir e lembrar a inocência e felicidade características da infância. À minha avó, pela dedicação, ensinamentos e sábios conselhos. Aos meus tios e primo, pela presença permanente nos momentos importantes. Ao Punky, o elemento canino que completa a família e o meu companheiro fiel nas horas de estudo e trabalho. A todos vós, **MUITO OBRIGADA!**



## RESUMO

A necessidade de avaliar o efeito na biodegradabilidade das alterações no fabrico de novos materiais de couro, através de um método que possa ser facilmente implementado e operado pela indústria, justificou o trabalho efectuado nesta dissertação. Assim, o presente estudo teve como objectivo o desenvolvimento de um método expedito para avaliação da biodegradabilidade do couro, que permita distinguir amostras sujeitas a diferentes processos de fabrico. Ainda com o objectivo de compreender o funcionamento do sistema e otimizar o processo de fabrico de novas amostras, foram aplicados os modelos exponencial dupla e de Gompertz para estimar a biodegradabilidade em sete dias e distinguir as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis.

No desenvolvimento do método expedito foram estudadas 10 amostras de couro, através da metodologia de avaliação da estabilidade do composto (EN 16087-1:2011), sujeita a adaptações. A análise do comportamento do sistema de medição de O<sub>2</sub> utilizado nesta metodologia (OxiTop®) foi também âmbito de estudo, para definição do material de referência adequado para validação do teste e para a caracterização da biodegradabilidade do couro.

Desta forma, o plano experimental desenvolveu-se em três fases, a primeira que pretendia avaliar o comportamento do sistema a alterações na quantidade de amostra utilizada e a adequabilidade do material de referência para a avaliação da biodegradabilidade do couro. Numa segunda fase os ensaios pretendiam avaliar a capacidade do sistema em diferenciar amostras sujeitas a diferentes processos de fabrico. Por último, os ensaios da terceira fase tinham como finalidade a modelação dos resultados experimentais, tendo para isso sido efectuado o prolongamento dos ensaios, de modo a determinar a biodegradabilidade última das amostras de couro.

A análise do comportamento do sistema permitiu constatar que este tem sensibilidade para responder a alterações de concentração de substrato, sendo igualmente capaz de distinguir entre amostras, com resultados de reprodutibilidade satisfatórios. No desenvolvimento do método expedito foi ainda possível definir que dos materiais de referência estudados – celulose, amido e pele sem tratamento (PST) – a PST era o material de referência mais adequado para avaliação da biodegradabilidade do couro.

O ajuste com os modelos matemáticos exponencial dupla e de Gompertz demonstrou ser satisfatório, embora o modelo de Gompertz tenha revelado menores coeficientes de variação associados à estimação dos parâmetros cinéticos. Os resultados estimados revelaram que a biodegradabilidade das amostras de couro variava entre 12% e 47% e situava-se na ordem dos 60% para os materiais de referência. Os resultados de biodegradação obtidos, expressos em função da biodegradação do material de referência (PST), variaram entre 22% e 84%, respectivamente para a amostra menos biodegradável e mais biodegradável.

Os resultados permitiram concluir que o recurso a agentes químicos nocivos ou a combinação de diferentes agentes de recurtume tem efeitos inibidores no processo de biodegradação. Contrariamente, amostras de couro com acabamentos encerados favorecem notoriamente o crescimento microbiano.

**Palavras-chave:** *Biodegradabilidade; Couro; Exponencial dupla; Gompertz; Método expedito; OxiTop®.*





## ABSTRACT

The need to evaluate the effect on the biodegradability of the changes in the production of new leather materials, through a method which can be easily implemented and operated by the industry, justified the work developed in this dissertation. Thus the present study aimed to develop a fast method for evaluating the biodegradability of leather, which distinguishes samples subjected to different processes. Still with the aim of understanding the operation of the system and optimizing the manufacturing process of new samples, the double exponential and the Gompertz models were applied for estimating the biodegradability in seven days and distinguish the rapidly and slowly biodegradable fractions.

For the development of the fast method 10 leather samples were studied following the methodology for evaluating the stability of compost (EN 16087-1:2011), subjected to adaptations. The behavior of the O<sub>2</sub> measuring system used in this methodology (OxiTop®) was also part of the study to define the appropriate reference material for the validation of the test and to characterize the biodegradability of leather.

Thus, the experimental plan was developed in three phases, the first was intended to evaluate the behavior of the system to changes in the amount of sample used and the suitable reference material for assessing the biodegradability of leather. In a second stage the tests intended to evaluate the ability of the system to differentiate samples subjected to different processes. Finally, in the third phase the trials were extended with the objective of modelling the experimental results in order to determine the ultimate biodegradability of the leather samples.

The behavior of the system showed that it has sensitivity to respond to changes in substrate concentration and is also able to distinguish between samples with a satisfactory reproducibility of results. In the development of the fast method it was still possible to define that the studied reference materials – cellulose, starch and untreated skin (PST) – the PST was the most appropriate reference material to evaluate the biodegradability of leather.

The fit with the double exponential and the Gompertz models proved to be satisfactory, although the Gompertz model has revealed lower coefficients of variation associated to the estimation of kinetic parameters. The estimated results showed that the biodegradability of leather samples ranged between 12% and 47% and that of the reference materials was around 60%. The biodegradation results obtained, expressed as a function of the biodegradation of the reference material (PST) ranged between 22% and 84% respectively for the less biodegradable sample and the most biodegradable.

The results it also demonstrated that the use of adverse chemical agents or a combination of different retanning agents has inhibitory effects on the biodegradation process. In contrast, leather samples with waxed finishes notoriously promote the microbial growth.

**Keywords:** *Biodegradability; Double exponential; Fast method; Gompertz; Leather; OxiTop®.*



# ÍNDICE DE MATÉRIAS

<b>Capítulo 1 - Introdução</b> .....	- 1 -
<b>1.1. Nota prévia</b> .....	- 1 -
<b>1.2. Enquadramento e definição do estudo</b> .....	- 1 -
<b>1.3. Objectivos do estudo</b> .....	- 4 -
<b>1.4. Organização da dissertação</b> .....	- 5 -
<b>Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica</b> .....	- 7 -
<b>2.1. Biodegradabilidade de materiais</b> .....	- 7 -
2.1.1. Fundamentos e descrição do processo de biodegradação .....	- 7 -
2.1.2. Factores que influenciam o processo de biodegradação .....	- 10 -
2.1.3. Metodologias de avaliação da biodegradabilidade .....	- 12 -
<b>2.2. Indústria do couro</b> .....	- 16 -
2.2.1. Processo de curtimento do couro .....	- 16 -
2.2.2. Aspectos ambientais da indústria do couro .....	- 20 -
2.2.3. Biodegradabilidade do couro .....	- 23 -
<b>2.3. Modelação matemática</b> .....	- 24 -
2.3.1. Fundamentos da modelação matemática .....	- 24 -
2.3.2. Aplicação de modelos matemáticos ao processo de biodegradação .....	- 27 -
<b>Capítulo 3 - Plano experimental</b> .....	- 31 -
<b>Capítulo 4 - Materiais e Métodos</b> .....	- 33 -
<b>4.1. Método expedito</b> .....	- 33 -
4.1.1. Descrição do sistema OxiTop® .....	- 33 -
4.1.2. Preparação das amostras e do meio de incubação .....	- 35 -
4.1.3. Procedimento experimental .....	- 36 -
<b>4.2. Materiais de estudo e inóculo</b> .....	- 37 -
<b>4.3. Métodos de cálculo</b> .....	- 40 -
<b>4.4. Ajuste dos modelos matemáticos</b> .....	- 41 -
4.4.1. Descrição dos modelos .....	- 41 -
4.4.2. Estimação dos parâmetros .....	- 43 -
4.4.3. Comparação de soluções .....	- 43 -
<b>Capítulo 5 - Resultados e Discussão</b> .....	- 45 -
<b>5.1. Caracterização dos materiais de estudo</b> .....	- 45 -
<b>5.2. Análise do comportamento do sistema</b> .....	- 49 -
<b>5.3. Definição do material de referência</b> .....	- 51 -

<b>5.4. Avaliação da biodegradabilidade do couro.....</b>	<b>- 53 -</b>
<b>Capítulo 6 - Conclusões e perspectivas de trabalho futuro.....</b>	<b>- 73 -</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>- 75 -</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>- 83 -</b>
<b>Anexo I - Resultados experimentais de P e COU por frasco.....</b>	<b>- 85 -</b>
<b>Anexo II - Resultados modelados de P por frasco.....</b>	<b>- 93 -</b>

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 2.1.</b> Resumo de normas existentes para avaliação da biodegradabilidade.....	- 14 -
<b>Quadro 2.2.</b> Comportamento dos diferentes agentes de curtimento .....	- 18 -
<b>Quadro 2.3.</b> Classificação e descrição dos diferentes tipos de modelo.....	- 25 -
<b>Quadro 3.1.</b> Plano experimental .....	- 32 -
<b>Quadro 4.1.</b> Descrição das amostras de couro.....	- 37 -
<b>Quadro 4.2.</b> Métodos de análise .....	- 39 -
<b>Quadro 5.1.</b> Resultados dos ST, SV, pH e condutividade dos materiais de estudo.....	- 45 -
<b>Quadro 5.2.</b> Resultados da análise elementar dos materiais de estudo .....	- 46 -
<b>Quadro 5.3.</b> Resultados dos metais presentes nos materiais de estudo.....	- 48 -
<b>Quadro 5.4.</b> Resultados da biodegradação dos materiais de referência .....	- 53 -
<b>Quadro 5.5.</b> Resultados da biodegradação das amostras de couro .....	- 57 -
<b>Quadro 5.6.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial .....	- 58 -
<b>Quadro 5.7.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz.....	- 59 -
<b>Quadro 5.8.</b> Resultados estimados para 7 dias da biodegradação das amostras de couro e dos materiais de referência .....	- 67 -
<b>Quadro 5.9.</b> Resultados estimados para 45 dias da biodegradação das amostras de couro e dos materiais de referência .....	- 69 -
<b>Quadro 5.10.</b> Resultados da biodegradação das amostras de couro face aos materiais de referência.....	- 70 -
<b>Quadro 5.11.</b> Parâmetros estatísticos dos modelos ajustados .....	- 71 -
<b>Quadro II.1.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 11.....	- 95 -
<b>Quadro II.2.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 11 .....	- 95 -
<b>Quadro II.3.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 15.....	- 97 -
<b>Quadro II.4.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 15 .....	- 97 -
<b>Quadro II.5.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 20.....	- 99 -
<b>Quadro II.6.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 20 .....	- 99 -
<b>Quadro II.7.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 21.....	- 101 -
<b>Quadro II.8.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 21 .....	- 101 -
<b>Quadro II.9.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 22.....	- 103 -
<b>Quadro II.10.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 22 .....	- 103 -
<b>Quadro II.11.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 23.....	- 105 -
<b>Quadro II.12.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 23 .....	- 105 -

<b>Quadro II.13.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 24.....	- 107 -
<b>Quadro II.14.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 24.....	- 107 -
<b>Quadro II.15.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 25.....	- 109 -
<b>Quadro II.16.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 25.....	- 109 -
<b>Quadro II.17.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 26.....	- 112 -
<b>Quadro II.18.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 26.....	- 112 -
<b>Quadro II.19.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 27.....	- 114 -
<b>Quadro II.20.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 27.....	- 114 -
<b>Quadro II.21.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial da PST.....	- 116 -
<b>Quadro II.22.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da PST.....	- 116 -
<b>Quadro II.23.</b> Parâmetros estimados para o modelo exponencial do Amido.....	- 119 -
<b>Quadro II.24.</b> Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz do Amido.....	- 119 -

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Hierarquia de prioridades para a gestão de resíduos .....	- 2 -
<b>Figura 1.2.</b> Benefícios resultantes da gestão integrada de resíduos industriais .....	- 3 -
<b>Figura 2.1.</b> Esquema geral do metabolismo aeróbio .....	- 9 -
<b>Figura 2.2.</b> Esquema geral do metabolismo anaeróbio .....	- 9 -
<b>Figura 2.3.</b> Representação da influência de alguns parâmetros no processo de biodegradação .....	- 11 -
<b>Figura 2.4.</b> Condições padrão dos testes aeróbios para determinação da biodegradabilidade .....	- 14 -
<b>Figura 2.5.</b> Descrição das diferentes fases do processo de curtimento .....	- 19 -
<b>Figura 2.6.</b> Fluxo básico de uma indústria de curtumes .....	- 21 -
<b>Figura 2.7.</b> Reagentes utilizados ao longo do processo de curtimento .....	- 22 -
<b>Figura 2.8.</b> Esquema representativo das etapas de construção e de otimização de um modelo ....	- 26 -
<b>Figura 2.9.</b> Curva típica de crescimento microbiano .....	- 27 -
<b>Figura 4.1.</b> Esquema do sistema OxiTop® .....	- 34 -
<b>Figura 4.2.</b> Trituradores utilizados para processamento das amostras (A) e do inóculo (B).....	- 35 -
<b>Figura 4.3.</b> Aspecto da amostra 26 antes (A) e depois da trituração (B) a 0,2 mm .....	- 35 -
<b>Figura 4.4.</b> Preparação do ensaio.....	- 36 -
<b>Figura 4.5.</b> Incubação do ensaio antes (A) e após o período de agitação inicial (B) .....	- 37 -
<b>Figura 5.1.</b> Queda de pressão da amostra 15 para diferentes concentrações .....	- 49 -
<b>Figura 5.2.</b> Queda de pressão da amostra 26 para diferentes concentrações .....	- 50 -
<b>Figura 5.3.</b> Consumo de oxigénio (A) e biodegradação (B) dos materiais de referência.....	- 52 -
<b>Figura 5.4.</b> Consumo de oxigénio (A) e biodegradação (B) das amostras de couro .....	- 54 -
<b>Figura 5.5.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos materiais de referência (PST e Amido).....	- 60 -
<b>Figura 5.6.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 11 e 15 .....	- 61 -
<b>Figura 5.7.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 20 e 22 .....	- 62 -
<b>Figura 5.8.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 21 e 25 .....	- 63 -
<b>Figura 5.9.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 23 e 24 .....	- 64 -
<b>Figura 5.10.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 26 e 27 .....	- 66 -

<b>Figura 5.11.</b> Queda de pressão registada nos ensaios prolongados para as amostras 26, 27 e PST .....	- 68 -
<b>Figura I.1.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 11 .....	- 85 -
<b>Figura I.2.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 15 .....	- 86 -
<b>Figura I.3.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 20 .....	- 86 -
<b>Figura I.4.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 21 .....	- 87 -
<b>Figura I.5.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 22 .....	- 87 -
<b>Figura I.6.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 23 .....	- 88 -
<b>Figura I.7.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 24 .....	- 88 -
<b>Figura I.8.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 25 .....	- 89 -
<b>Figura I.9.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 26, ensaio com 0,1 g.....	- 89 -
<b>Figura I.10.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 26, ensaio com 0,2 g.....	- 90 -
<b>Figura I.11.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 27 .....	- 90 -
<b>Figura I.12.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de PST.....	- 91 -
<b>Figura I.13.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de Amido.....	- 91 -
<b>Figura I.14.</b> Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de Celulose .....	- 92 -
<b>Figura II.1.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1 a 3 da amostra 11 .....	- 93 -
<b>Figura II.2.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 5, 7 e 8 da amostra 11.....	- 94 -
<b>Figura II.3.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 9 e 11 da amostra 11 .....	- 94 -
<b>Figura II.4.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 6 a 8 da amostra 15 .....	- 96 -
<b>Figura II.5.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 9 e 10 da amostra 15 .....	- 96 -
<b>Figura II.6.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1 a 3 da amostra 20 .....	- 98 -
<b>Figura II.7.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 5 e 6 da amostra 20 .....	- 98 -
<b>Figura II.8.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1, 2 e 4 da amostra 21.....	- 100 -
<b>Figura II.9.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 5 e 6 da amostra 21 .....	- 100 -
<b>Figura II.10.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 8 e 9 da amostra 22 .....	- 102 -



<b>Figura II.11.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 10 e 12 da amostra 22.....	- 102 -
<b>Figura II.12.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 13 a 15 da amostra 23.....	- 104 -
<b>Figura II.13.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 16 a 17 da amostra 23.....	- 104 -
<b>Figura II.14.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 8 a 10 da amostra 24 .....	- 106 -
<b>Figura II.15.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 11 e 12 da amostra 24.....	- 106 -
<b>Figura II.16.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 13 a 15 da amostra 25.....	- 108 -
<b>Figura II.17.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 16 e 18 da amostra 25.....	- 108 -
<b>Figura II.18.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1 a 3 da amostra 26 .....	- 110 -
<b>Figura II.19.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 4 e 5 da amostra 26 .....	- 110 -
<b>Figura II.20.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 7 e 8 da amostra 26 .....	- 111 -
<b>Figura II.21.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 8 e 9 da amostra 27 .....	- 113 -
<b>Figura II.22.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 10 e 11 da amostra 27.....	- 113 -
<b>Figura II.23.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1, 3 e 4 da PST.....	- 115 -
<b>Figura II.24.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 5, 6 e 9 da PST.....	- 115 -
<b>Figura II.25.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 11 a 13 do Amido.....	- 117 -
<b>Figura II.26.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 14 e 15 do Amido.....	- 117 -
<b>Figura II.27.</b> Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 17 e 18 do Amido.....	- 118 -



## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- An** – Amostra número  $n$
- Bio** – Biodegradação (expressa em %)
- BOD** – Biochemical oxygen demand
- CD** – Coeficiente de determinação
- COD** – Chemical oxygen demand
- COU** – Cumulative oxygen uptake (expresso em mmol O<sub>2</sub>/kg SV)
- CSM** – Critério de selecção do modelo
- DOC** – Dissolved organic carbon
- DQR** – Directiva-Quadro dos Resíduos
- Fn** – Frasco número  $n$
- k** – Constante cinética de primeira ordem (expressa em d<sup>-1</sup>)
- k<sub>r</sub>** – Constante cinética de primeira ordem da fracção rapidamente biodegradável (expressa em d<sup>-1</sup>)
- k<sub>s</sub>** – Constante cinética de primeira ordem da fracção lentamente biodegradável (expressa em d<sup>-1</sup>)
- M<sub>r</sub>** – Massa molecular
- n** – Número de pontos experimentais
- O<sub>c</sub>** – Oxigénio consumido (expresso em mg O<sub>2</sub>)
- P** – Pressão (expressa em hPa)
- P<sub>est</sub>** – Pressão estimada (expressa em hPa)
- P<sub>obs</sub>** – Pressão observada (expressa em hPa)
- P<sub>r</sub>** – Pressão consumida pela fracção rapidamente biodegradável (expressa em hPa)
- P<sub>s</sub>** – Pressão consumida pela fracção lentamente biodegradável (expressa em hPa)
- p** – Número de parâmetros do modelo
- PESGRI** - Plano Estratégico Nacional Sectorial de Gestão de Resíduos Industriais
- PNAPRI** – Plano Nacional de Prevenção dos Resíduos Industriais
- PNGR** - Plano Nacional de Gestão de Resíduos
- ppm** – Partes por milhão
- ps** – Peso seco
- PST** – Pele sem tratamento
- R** - constante dos gases ideais (expressa em L.kPa.K<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>)
- Rep** – Reprodutibilidade (expressa em %)
- RSU** – Resíduos sólidos urbanos

**S<sub>e</sub>** - Erro padrão da estimativa

**SQR** – Soma do quadrado dos resíduos

**ST** – Sólidos totais (expresso em %)

**SV** – Sólidos voláteis (expresso em %)

**t** – Tempo (expresso em dias)

**T** – Temperatura (expressa em °C)

**ThCO<sub>2</sub>** – Theoretical carbon dioxide

**ThOD** – Theoretical oxygen demand (expresso em mg O<sub>2</sub>/g ps)

**V<sub>frasco</sub>** – Volume do frasco (expresso em mL)

**V<sub>gás</sub>** – Volume do gás (expresso em mL)

**V<sub>líq</sub>** – Volume do líquido (expresso em mL)

**W** – Peso da amostra (expresso em g)

**ρ** – Densidade da amostra (expressa em kg/m<sup>3</sup>)

**μ<sub>máx</sub>** - Taxa específica máxima de crescimento (expressa em hPa.d<sup>-1</sup>)

**μ<sub>máxr</sub>** - Taxa específica máxima de crescimento correspondente à população que degrada a fracção rapidamente biodegradável (expressa em hPa.d<sup>-1</sup>)

**μ<sub>máxs</sub>** - Taxa específica máxima de crescimento correspondente à população que degrada a fracção lentamente biodegradável (expressa em hPa.d<sup>-1</sup>)

**λ** – Duração da *lag phase* (expressa em dias)

**λ<sub>r</sub>** – Duração da *lag phase* correspondente à fracção rapidamente biodegradável (expressa em dias)

**λ<sub>s</sub>** – Duração da *lag phase* correspondente à fracção lentamente biodegradável (expressa em dias)

# Capítulo 1

## Introdução

### 1.1. Nota prévia

O presente trabalho foi realizado no âmbito do projecto *Be Nature – Desenvolvimento de couro e calçado biodegradável* (Projecto nº 2010/011473), co-financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Quadro de Referência Estratégica Nacional (QREN) – Programa Operacional Factores de Competitividade (COMPETE). Este projecto envolveu a parceria de entidades empresariais e tecnológicas da indústria portuguesa do couro – António Nunes de Carvalho S.A. (ANC), Comforsyst S.A., Centro Tecnológico do Calçado de Portugal (CTCP) e Centro Tecnológico das Indústrias do Couro (CTIC) – e uma entidade do Sistema Científico Nacional, a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL).

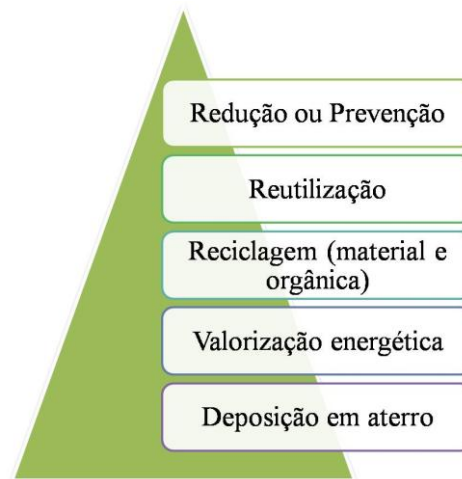
### 1.2. Enquadramento e definição do estudo

O acentuado crescimento demográfico e a industrialização que se verificaram nos últimos 200 anos estiveram na origem de graves problemas de poluição (Gijzen, 2002; Wilk, 2002). A melhoria da qualidade de vida da sociedade e o desenvolvimento tecnológico, potenciaram elevados padrões de consumo, com consequentes elevados padrões de desperdício e impactes sobre os recursos naturais (OECD, 2000; Levy e Cabeças, 2006; Eurostat, 2010; Martinho *et al.*, 2011).

O elevado volume de resíduos resultantes de actividades de produção e de consumo impulsionaram graves problemas ambientais, devido à sua gestão e deposição inadequadas. A deposição não controlada de resíduos tem impactes nocivos nos recursos naturais, devido à sua poluição generalizada, contribuindo ainda para a intensificação das alterações climáticas e para a proliferação de vectores transmissores de doenças (Rushton, 2003; Cointreau, 2006).

Desta forma, a gestão dos resíduos produzidos tem sido motivo de preocupação, tanto para as empresas como para a sociedade, não só pelos impactes ambientais implícitos, mas também pelo custo económico associado (AEP, 2011). Pelo que as estratégias nacionais e comunitárias de gestão de resíduos evidenciam a necessidade de se reforçar a prevenção e redução dos resíduos produzidos (OECD, 2000).

Na União Europeia (UE) a Directiva-Quadro dos Resíduos (DQR) - Directiva 2008/98/CE - estabelece uma estratégia orientada para a redução da produção de resíduos, referindo a importância do aproveitamento dos sub-produtos da valorização sempre que possível (Eurostat, 2010; Plano Nacional de Gestão de Resíduos - PNGR, 2011). No entanto, a deposição em aterro, embora deva ser encarada como solução de último recurso, terá sempre um papel importante a desempenhar em qualquer sistema de gestão de resíduos (Levy e Cabeças, 2006; AEP, 2011). Assim, na figura 1.1., apresenta-se a hierarquia preferencial das opções de gestão estabelecida pela UE como medida estratégica em matéria de resíduos (Directiva 2008/98/CE).



**Figura 1.1.** Hierarquia de prioridades para a gestão de resíduos (Adaptado de Martinho *et al.*, 2011)

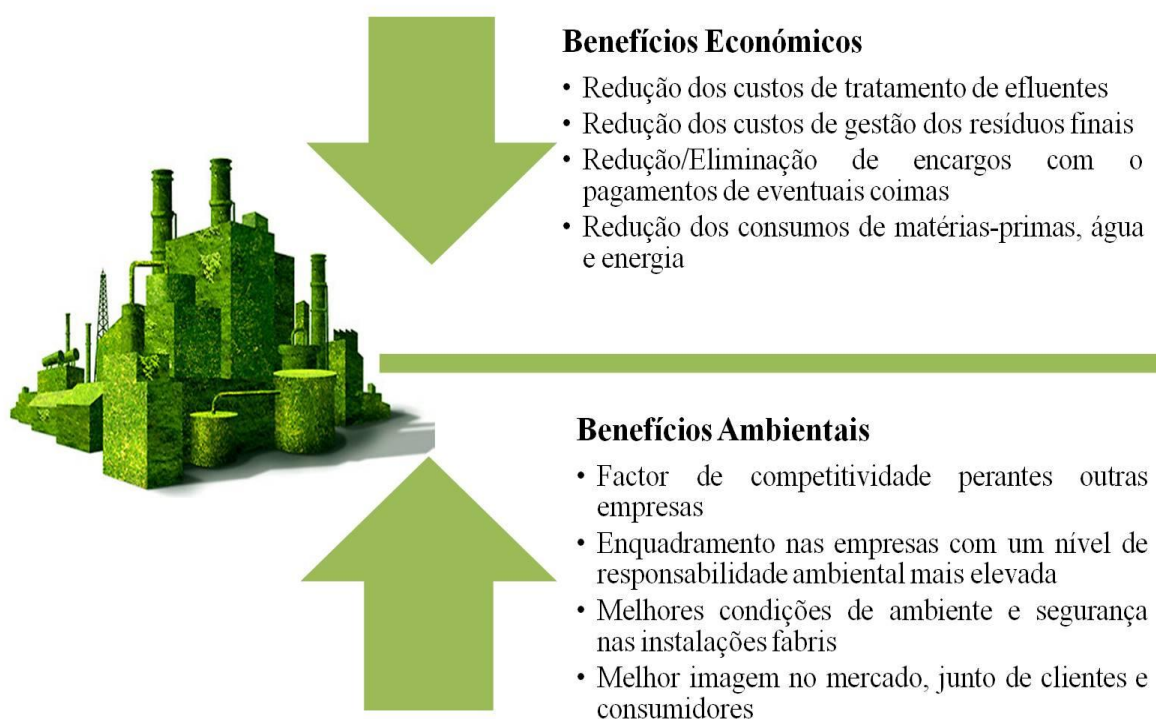
A nível nacional, o Plano Nacional de Gestão de Resíduos (PNGR, 2011), é o documento orientador da política de gestão de resíduos, fixando os objectivos e disposições para os próximos anos, através da elaboração de planos sectoriais específicos. O documento estabelece como meta, para 2020, a redução de 20% da quantidade absoluta de resíduos produzidos face ao ano de 2009. Neste documento, são ainda definidos como principais objectivos estratégicos, para o período de 2011-2020:

- **Promover a eficiência da utilização de recursos naturais na economia**, através da promoção de padrões de produção e consumo responsáveis, da prevenção da produção de resíduos e da redução da extracção de recursos materiais e energéticos, e do reaproveitamento dos materiais utilizados, reciclados e valorizados no ciclo de vida dos produtos;
- **Prevenir ou reduzir os impactes adversos da produção e gestão de resíduos**, através do aumento de eficiência dos processos e tecnologias envolvidas na gestão de resíduos, numa lógica de ciclo de vida, evitando-se a transferência de impactes entre fases do ciclo de vida dos produtos/materiais, nomeadamente através da adopção de critérios que conjuguem a exequibilidade técnica e a viabilidade económica com a protecção da saúde e do ambiente.

Dos planos sectoriais elaborados destacam-se os que definem as estratégias de gestão de resíduos industriais, sendo eles o Plano Estratégico dos Resíduos Industriais (PESGRI, 2001) e o Plano Nacional de Prevenção de Resíduos Industriais (PNAPRI, 2001). Nestes documentos é realçada a necessidade de se reduzir a quantidade de resíduos produzidos e o seu nível de perigosidade (AEP, 2011).

Embora complementares, os âmbitos de actuação destes dois planos são diferentes. Enquanto que o PNAPRI (2001) se restringe aos sistemas produtivos, através da implementação de medidas e tecnologias de prevenção da poluição relacionados com a actividade industrial, o PESGRI (2001) fomenta o desenvolvimento sustentável do sector industrial, preconizando a hierarquia das opções de gestão de resíduos (AEP, 2011).

Na figura 1.2., encontra-se um esquema do que o PNAPRI (2001) destaca como benefícios para as empresas, resultantes da adopção e implementação de estratégias de prevenção e gestão integrada de resíduos.



**Figura 1.2.** Benefícios resultantes da gestão integrada de resíduos industriais (Adaptado de PNAPRI, 2001)

A indústria do couro, consciente não só dos benefícios ambientais e económicos associados à gestão integrada dos seus resíduos, que destacam a empresa e reduzem os custos de produção, bem como dos impactes resultantes da sua actividade industrial, nomeadamente o elevado volume de resíduos produzidos, tem vindo a adoptar medidas de valorização dos seus resíduos e de certificação dos materiais de couro. Definindo assim as melhores alternativas de gestão dos produtos, no final do seu ciclo de vida (CTCP, 2012a,b).

De facto, a United Nations Industrial Development Organization (UNIDO, 2000) estima que, a nível mundial, a produção anual de resíduos de couro seja cerca de 2 500 000 t, relativamente a todos os sectores produtivos desta indústria (e.g. produtos primários, marroquinaria, vestuário e acessórios). Em Portugal estima-se em 75 000 toneladas a produção anual de resíduos de couro, embora apenas uma tonelada seja classificada como resíduos perigosos. No entanto, dos resíduos produzidos, mais de 50% são resíduos orgânicos e cerca de 25% são resíduos orgânicos com crómio (INETI, 2000). No PNAPRI (2001), as projecções da produção de resíduos de couro para 2015 apontam para valores de

cerca de 105 000 t, não considerando a implementação de medidas de prevenção e 95 000 t, quando considerando o efeito da prevenção.

Assim, tendo em consideração a possibilidade de reduzir ou valorizar os resíduos gerados durante o processo industrial, a indústria de curtumes tem vindo a implementar inovações tecnológicas e medidas de gestão ambiental no desenvolvimento dos seus produtos (Thanikaivelan *et al.*, 2004; Joseph e Nithya, 2009; Nogueira *et al.*, 2011; CTCP, 2012a,b; Krishnamoorthy *et al.*, 2012). Desta forma, contribuem para o cumprimento das metas estabelecidas no PNGR (2011), possibilitando o desvio de resíduos de aterro e tornando a reciclagem, reutilização e valorização orgânica (compostagem e digestão anaeróbia) opções válidas para a gestão dos resíduos produzidos (Taylor *et al.*, 1998; UNIDO, 2000; Ferreira *et al.*, 2010; AEP, 2011).

### **1.3. Objectivos do estudo**

A presente dissertação tem como objectivo o desenvolvimento de um método expedito para avaliação da biodegradabilidade do couro, que permita distinguir amostras sujeitas a diferentes processos de fabrico e que possa ser facilmente implementado e operado, de acordo com as necessidades quotidianas da indústria. Também a aplicação de modelos matemáticos que decrevam o processo de biodegradação e permitam a compreensão do sistema OxiTop® é objectivo de estudo, na medida em que possibilita a optimização do processo de fabrico dos materiais de couro, através da exploração de novos produtos, com minimização das experimentações físicas.

Para a concretização do estudo, foram efectuadas adaptações à metodologia de avaliação da estabilidade do composto (EN 16087-1:2011), que utiliza o sistema OxiTop® para medição indirecta do consumo de O<sub>2</sub>. O desenvolvimento do método expedito foi feito de acordo com o estudo do comportamento do sistema OxiTop®, do seguinte modo:

- Estudo do efeito da variação de concentração de substrato nos resultados obtidos;
- Análise da reprodutibilidade de resultados;
- Definição do material de referência adequado para validação do teste;
- Capacidade de diferenciar amostras sujeitas a diferentes processos de fabrico, através da determinação da biodegradabilidade primária das amostras de couro;
- Prolongamento do tempo de ensaio, de modo a modelar os resultados experimentais de pressão e determinar a biodegradabilidade última das amostras de couro.



#### **1.4. Organização da dissertação**

A presente dissertação encontra-se estruturada em seis capítulos, uma secção de referências bibliográficas e uma secção de anexos.

No primeiro capítulo são introduzidos os temas abordados nesta dissertação, através de um enquadramento e descrição das orientações estratégicas associadas à produção de resíduos industriais e a relação da problemática com a produção e valorização de resíduos de couro. Na sequência do enquadramento apresentam-se os objectivos e as linhas orientadoras da dissertação.

O capítulo 2 apresenta a revisão da bibliografia consultada, que serviu de sustento teórico para a elaboração desta dissertação. Neste capítulo são descritos os aspectos fundamentais do processo de biodegradação, através da caracterização do processo e dos factores envolvidos. Neste capítulo é apresentada também uma descrição da indústria do couro, nomeadamente o processo de fabrico deste material e os impactes ambientais associados. Este capítulo termina com a revisão bibliográfica da aplicação de modelos matemáticos ao processo de biodegradação.

O plano experimental é apresentado no capítulo 3, onde são enumeradas as actividades experimentais realizadas e o respectivo objectivo no âmbito do estudo.

No quarto capítulo é descrito o método expedito adoptado para avaliação da biodegradabilidade, com a definição do princípio de medição do sistema OxiTop® e descrição dos materiais de estudo e do processamento das amostras. Para além disso, encontra-se ainda o procedimento experimental e os métodos de cálculo utilizados para a determinação da percentagem de biodegradação das amostras de couro. No final do capítulo 4 apresenta-se uma descrição do processo de modelação dos resultados experimentais, através de uma descrição dos modelos matemáticos utilizados (exponencial dupla e Gompertz), do modo de determinação dos parâmetros cinéticos dos modelos e ainda os métodos utilizados para fazer a comparação das soluções obtidas por ambos os modelos.

No capítulo 5 apresentam-se e discutem-se os resultados obtidos, quer na caracterização dos materiais de estudo, quer para avaliação do comportamento do sistema a alterações de concentração de substrato e definição da adequabilidade do material de referência. Neste capítulo são ainda apresentados os resultados relativos ao consumo de oxigénio e biodegradação das amostras de couro obtidas pela aplicação dos modelos exponencial dupla e de Gompertz.

Finalmente, no capítulo 6 apresentam-se as principais conclusões da presente dissertação e as perspectivas de trabalho a desenvolver no futuro.



# Capítulo 2

## Revisão Bibliográfica

### 2.1. Biodegradabilidade de materiais

#### 2.1.1. Fundamentos e descrição do processo de biodegradação

O desenvolvimento tecnológico e industrial conduziu ao desenvolvimento de novos compostos e materiais que se revelam nocivos para o ambiente, por apresentarem características químicas e estruturais diferentes das que apresentam os produtos orgânicos naturais e, portanto, condicionarem a sua biodegradabilidade. Desta forma, o conhecimento do comportamento ambiental das substâncias químicas que se libertam em grandes quantidades na natureza é uma das responsabilidades da indústria (Santos Oliveira, 1982; Obayashi e Gorgan, 1985; Pagga, 1997).

Santos Oliveira (1982) descreve que toda a reacção de biossíntese conhece uma reacção de sentido inverso de biodegradação. O mesmo autor explica que, no decurso de processos de evolução genética e com a formação de diferentes biomoléculas, as células desenvolveram sistemas enzimáticos cada vez mais complexos. No entanto, o autor também refere que nem todas as moléculas apresentam igual rapidez na forma como são biodegradadas comparativamente com a sua biossíntese. Segundo Pagga (1997) e Batista e Batista (2007), a composição bioquímica do material é de extrema importância para o processo de biodegradação por determinar a sua susceptibilidade à decomposição microbiana.

De facto, substratos contendo hidratos de carbono, proteínas e lípidos, de estruturas químicas mais simples, são mais facilmente biodegradáveis, proporcionando uma fonte de carbono e de energia para os microrganismos. Contrariamente, substratos com elevada composição em celulose e lenhina e baixo teor em compostos azotados, são degradados lentamente por apresentarem estruturas químicas mais complexas (Batista e Batista, 2007). Contudo, de acordo com Santos Oliveira (1982), é possível afirmar que todas as moléculas que foram biossintetizadas podem também ser biodegradadas, excepto se tiverem sofrido alterações na sua estrutura ou composição, na sequência de processos físico-químicos.

Pagga (1999) refere que se as condições forem favoráveis ao desenvolvimento de populações microbiológicas, os processos de biodegradação podem ocorrer, com frequência, em ambiente natural ou em sistemas técnicos de tratamento de águas e resíduos. Alguns autores evidenciam ainda que

todos os materiais de base orgânica apresentam uma biodegradabilidade inerente, podendo até ser, eventualmente, totalmente degradados no meio natural, onde o tempo é, virtualmente, ilimitado (Santos Oliveira, 1982; Pagga, 1999; Chiellini *et al.*, 2006).

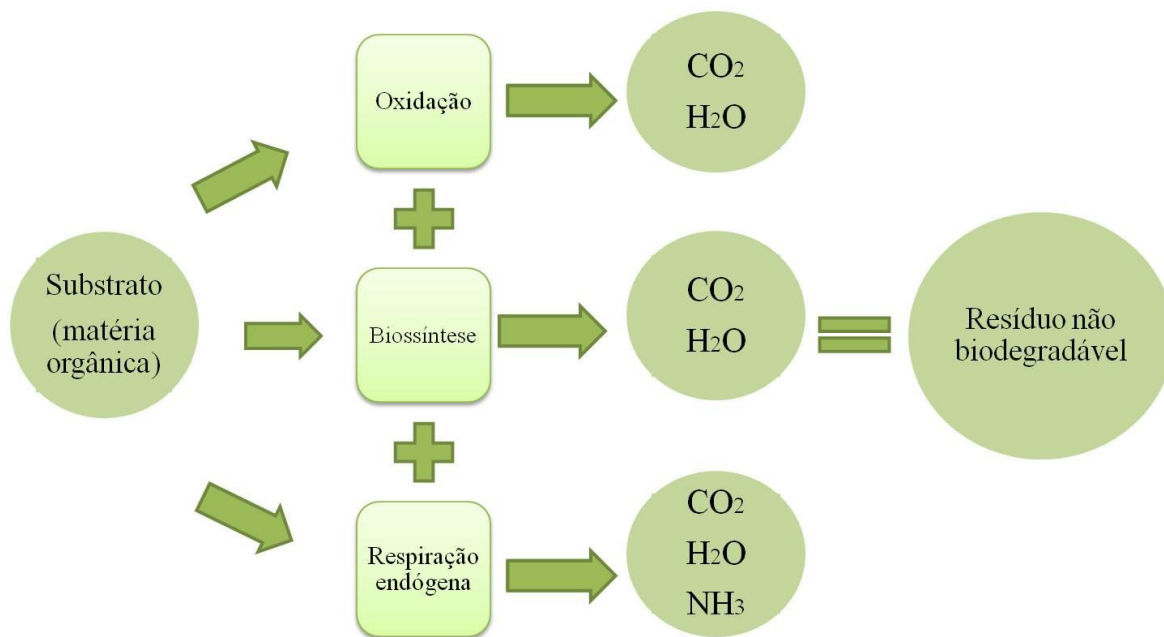
O processo de biodegradação é o resultado de uma complexa cadeia de processos, que envolvem reacções entre o composto, a população microbiana e as condições ambientais onde estes dois estão reunidos (Obayashi e Gorgan, 1985; Borsuk e Stow, 2002). A biodegradação pode ser definida como a alteração da estrutura química do substrato (a partir do qual poderão existir derivados) ou das suas propriedades físicas provocadas pelos processos bioquímicos (Obayashi e Gorgan, 1985; Pagga *et al.*, 1996; Pagga, 1997). O grau de alteração dos compostos pode ser dividido em três categorias (Obayashi e Gorgan, 1985; Pagga, 1997; Calmon-Decriaud *et al.*, 1998; Reuschenbach *et al.*, 2003):

- **Biodegradação primária:** compreende a mínima alteração necessária na composição química do substrato, de forma a torná-lo indetectável através de técnicas de medição analíticas usadas na detecção de compostos alvo;
- **Biodegradação aceitável:** a degradação ocorre na extensão necessária para remover algumas propriedades indesejáveis do composto, tais como a toxicidade; Do ponto de vista ecológico este nível de degradação não é suficiente, pois os produtos da degradação parcial não são estáveis e podem ser acumuláveis;
- **Biodegradação última:** consiste na conversão completa do composto em produtos inócuos, sendo o objectivo mais desejável em qualquer reacção de biodegradação.

O grau de estabilização desejado depende do composto e da sua concentração. Em alguns casos, a biodegradação primária pode ser perfeitamente aceitável para meios receptores, enquanto que em outros casos, processos mais curtos do que a biodegradação última podem não ser convenientes (Obayashi e Gorgan, 1985).

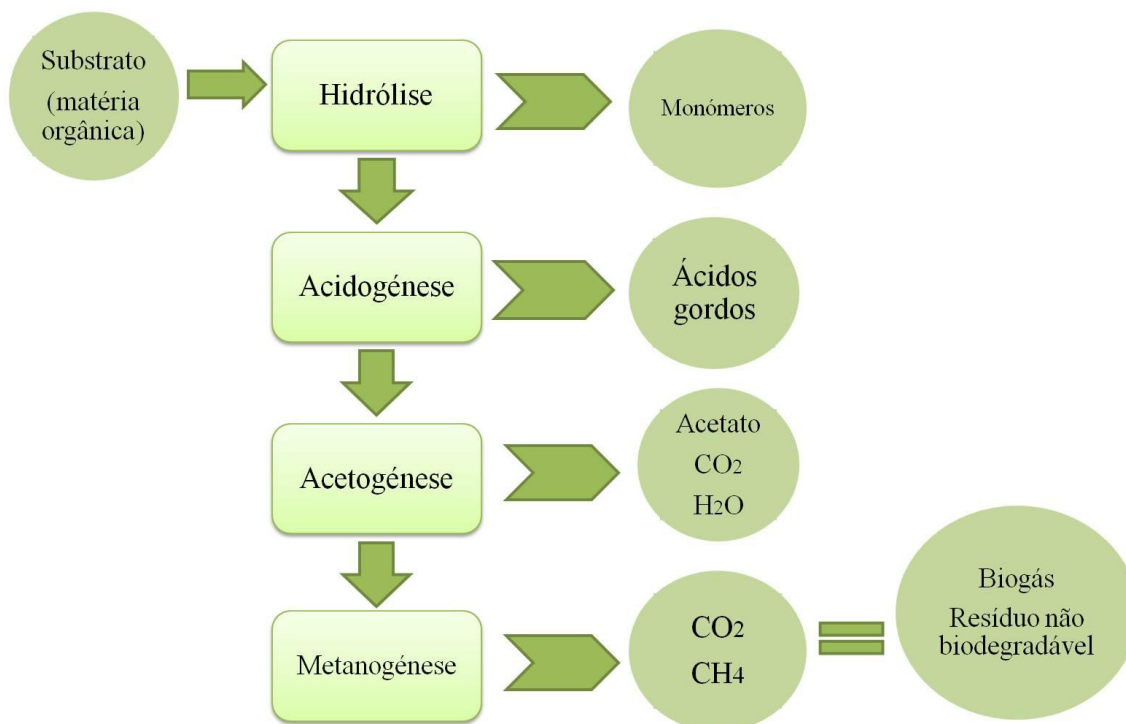
O processo de biodegradação de um substrato pode ocorrer por duas vias distintas, aeróbia ou anaeróbia.

A biodegradação por via aeróbia é caracterizada pela oxidação de um composto orgânico, por uma população de microrganismos, levando à formação de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, resíduos solúveis não biodegradáveis e novas células resultantes do crescimento de microrganismos. Através desta oxidação os microrganismos usam os compostos orgânicos como fonte de energia (através da oxidação dos compostos orgânicos a CO<sub>2</sub>) e como fonte de crescimento, através da assimilação de parte do carbono do substrato para a produção de novas células (Santos Oliveira, 1982; Grady, 1985). Na figura 2.1. apresenta-se um esquema representativo do processo de degradação aeróbia.



**Figura 2.1.** Esquema geral do metabolismo aeróbio (Adaptado de Santos Oliveira, 1982)

Quanto à biodegradação por via anaeróbia, esta pode ser descrita como a degradação de substratos orgânicos em condições de ausência de oxigênio. O processo baseia-se na hidrólise de partículas complexas, com vista a tornar polímeros orgânicos insolúveis (proteínas, lípidos e hidratos de carbono), de estrutura química mais complexa, em monómeros (aminoácidos, ácidos gordos e açúcares), que ficarão disponíveis para outras bactérias. Do processo resultam CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e uma quantidade reduzida de células bacterianas (Santos Oliveira, 1982; Obayashi e Gorgan, 1985; Matsinhe, 2011). O esquema que representa o metabolismo anaeróbio encontra-se na figura 2.2.



**Figura 2.2.** Esquema geral do metabolismo anaeróbio (Adaptado de Obayashi e Gorgan, 1985)

Do ponto de vista ecológico, a avaliação da biodegradabilidade de novos compostos químicos é essencial de forma a analisar os seus potenciais impactos ambientais (Pagga, 1997; Epifâneo, 2003). Alguns compostos orgânicos presentes nas águas residuais ou em resíduos sólidos podem ser completamente degradados nas estações de tratamento quando os processos biológicos contêm microrganismos adaptados a esses compostos. Posto isto, importa compreender a cinética da reacção de biodegradação e os possíveis efeitos nos processos de tratamento, resultantes da adição de compostos orgânicos de determinada natureza (Haug, 1993; Pagga, 1999; Epifâneo, 2003).

Segundo Rozich e Gaudy (1992), muitas substâncias como metais pesados, compostos orgânicos não biodegradáveis, sais, entre outros, podem por si próprios, ou em conjugação com outros compostos, produzir um efeito inibitório na capacidade de uma dada população microbiana degradar um determinado substrato. Assim, a biodegradabilidade e a toxicidade são dois parâmetros que determinam o comportamento das substâncias no ambiente natural e nos sistemas de tratamento. De acordo com Pitter (1976) citado por Epifâneo (2003), as substâncias orgânicas podem ser divididas em quatro grupos:

- 1 - Substâncias biologicamente degradáveis e não tóxicas;
- 2 - Substâncias biologicamente degradáveis e tóxicas;
- 3 - Substâncias não degradáveis biologicamente e não tóxicas;
- 4 - Substâncias não degradáveis biologicamente e tóxicas.

Em relação aos compostos do primeiro grupo, não existe qualquer objecção ao seu tratamento biológico, havendo a possibilidade de tratamento dos pertencentes ao segundo grupo, em sistemas de tratamento biológico, após uma diluição adequada. Todavia, o tratamento de compostos do terceiro, e em especial do quarto grupo, poderá ser limitado ou tornar-se praticamente impossível (Pitter 1976 e Pitter e Chudoba, 1990 citados por Epifâneo, 2003).

É de realçar contudo que a biodegradação de um composto pode, segundo Grady (1985), resultar em efeitos prejudiciais, uma vez que podem estabelecer alterações pouco positivas, tais como, a conversão de compostos inofensivos em compostos tóxicos, a alteração de um composto rapidamente metabolizado para um difícil de destruir ou a alteração da toxicidade de um composto, inibindo a actividade de outros organismos.

#### 2.1.2. Factores que influenciam o processo de biodegradação

O processo de biodegradação é mais eficiente, quanto melhor adaptada estiver uma determinada cultura de microrganismos, isto é, quanto maior for o seu crescimento. Contudo, o crescimento microbiano é influenciado pelas condições ambientais em que ocorre o processo, cujas características podem ser muito variáveis (Rozich e Gaudy, 1992).

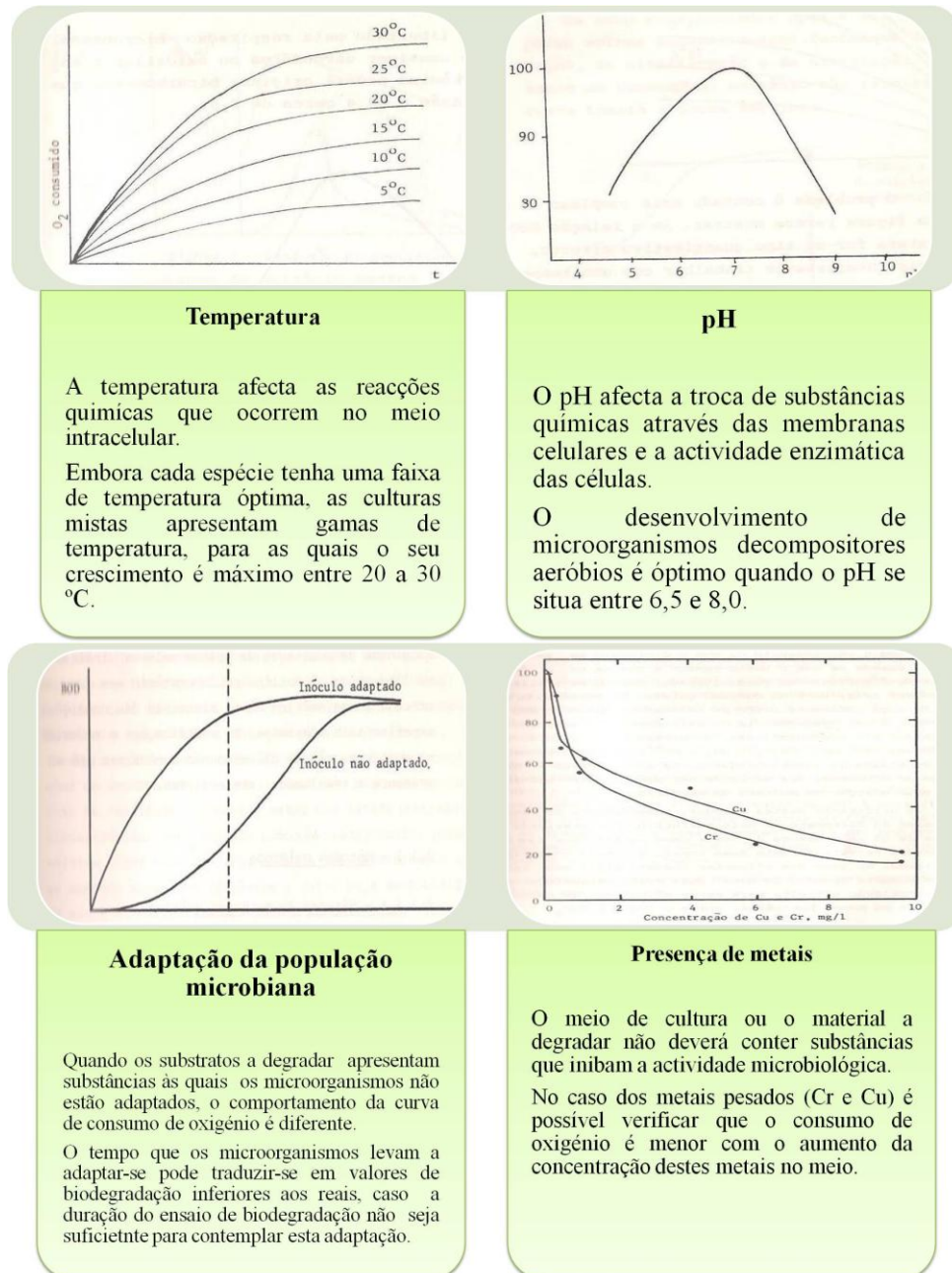
A biodegradabilidade, conforme refere Pitter (1976) citado por Epifâneo (2003), pode ser influenciada por três tipos de factores: físicos, químicos e biológicos.

Os factores físicos são a temperatura, a solubilidade, o grau de dispersão do composto no meio, o pH e o oxigénio dissolvido. Estes factores podem ter influência na extensão e categoria de biodegradação e, consequentemente, nos seus efeitos na ecologia do ambiente receptor (água, solo, ar). O mesmo se pode referir para os factores químicos, como o tamanho das moléculas, a estequiometria e o número de substitutos na molécula, que ao contribuírem para as propriedades estruturais do composto a degradar,

limitam a extensão e a eficiência do processo de biodegradação (Obayashi e Gorgan, 1985; Rozich e Gaudy, 1992; Epifâneo, 2003 citando Dosanjh e Wase, 1987).

Quanto aos factores biológicos, estes incluem as características da cultura microbiana e a presença de nutrientes ou de substâncias inibidoras da actividade microbiológica (metais, sais, substâncias orgânicas). É de notar que culturas mistas de microrganismos possuem maior capacidade de adaptação a diferentes materiais orgânicos, enquanto culturas únicas podem não ser tão facilmente adaptáveis (Santos Oliveira, 1982; Rozich e Gaudy, 1992; Levenspiel, 1999).

Na figura 2.3. é possível verificar a influência destes factores no consumo de oxigénio.



**Figura 2.3.** Representação da influência de alguns parâmetros no processo de biodegradação (Adaptado de Santos Oliveira, 1982)

Tal como descrito anteriormente, a eficiência do processo de biodegradação está dependente das condições ambientais do meio. De facto, culturas puras apresentam taxas de crescimento óptimas para determinadas condições de pH e temperatura, enquanto que o crescimento de culturas mistas é favorável numa maior faixa de temperatura (20 a 30°C) e pH (6,5 a 8,0). A optimização do processo é também verificada para culturas de microrganismos adaptadas, por acelerarem o processo e alcançarem o nível máximo de biodegradação mais rapidamente. A presença de substâncias inibidoras é outro factor importante no processo de biodegradação, tal como apresentado na figura 2.3. a presença de metais tem efeitos tóxicos sobre os microrganismos, sendo esses efeitos agravados com o aumento da concentração de metais no meio ou no material a degradar.

De acordo com o que é descrito por Obayashi e Gorgan (1985), existem regras gerais que determinam a susceptibilidade de um composto à degradação microbiana, entre as quais se destacam:

- Elementos que passam através das membranas das células encontram-se mais facilmente disponíveis para os microrganismos, sendo degradados mais rapidamente;
- As populações microbianas têm preferência por compostos não aromáticos ao invés dos aromáticos;
- Compostos solúveis são mais facilmente degradados que os insolúveis;
- Um elevado grau de ramificações na estrutura do composto confere elevada resistência à degradação;
- Compostos dispersos providenciam maior área de superfície para ataque e, por isso, degradam mais facilmente;
- Compostos com ligações não-saturadas são degradados mais facilmente que compostos saturados;
- Alguns materiais tais como álcoois, aldeídos, ácidos, ésteres, amidas e aminoácidos são mais facilmente biodegradáveis que os correspondentes alcenos, cetonas, nitrilos e aminas.

### 2.1.3. Metodologias de avaliação da biodegradabilidade

Os testes de biodegradabilidade têm como objectivo estimar a extensão da oxidação bioquímica dos compostos orgânicos. Estes testes podem ser usados para se otimizar o processo industrial, na medida em que permitem determinar se o produto fabricado ou os resíduos gerados durante o processo industrial podem ser degradados, eficientemente, em sistemas de tratamento biológico (Obayashi e Gorgan, 1985; Haug, 1993; Pagga, 1997).

Actualmente, existe uma elevada variabilidade de testes para avaliar a biodegradabilidade e que se podem dividir em três grupos: os que avaliam a biodegradabilidade inerente, os que determinam a biodegradabilidade primária e os que simulam as condições encontradas nos processos de tratamento (Santos Oliveira, 1982; Pagga, 1997; Calmon-Decriaud *et al.*, 1998; Reuschenbach *et al.*, 2003; OECD, 2005).

Os testes que avaliam a biodegradabilidade primária são usados como procedimento rápido para avaliar a susceptibilidade do composto em teste à degradação microbiana. Estes testes são simples de efectuar, requerendo o mínimo de equipamento. Os testes de simulação, por sua vez, são mais difíceis



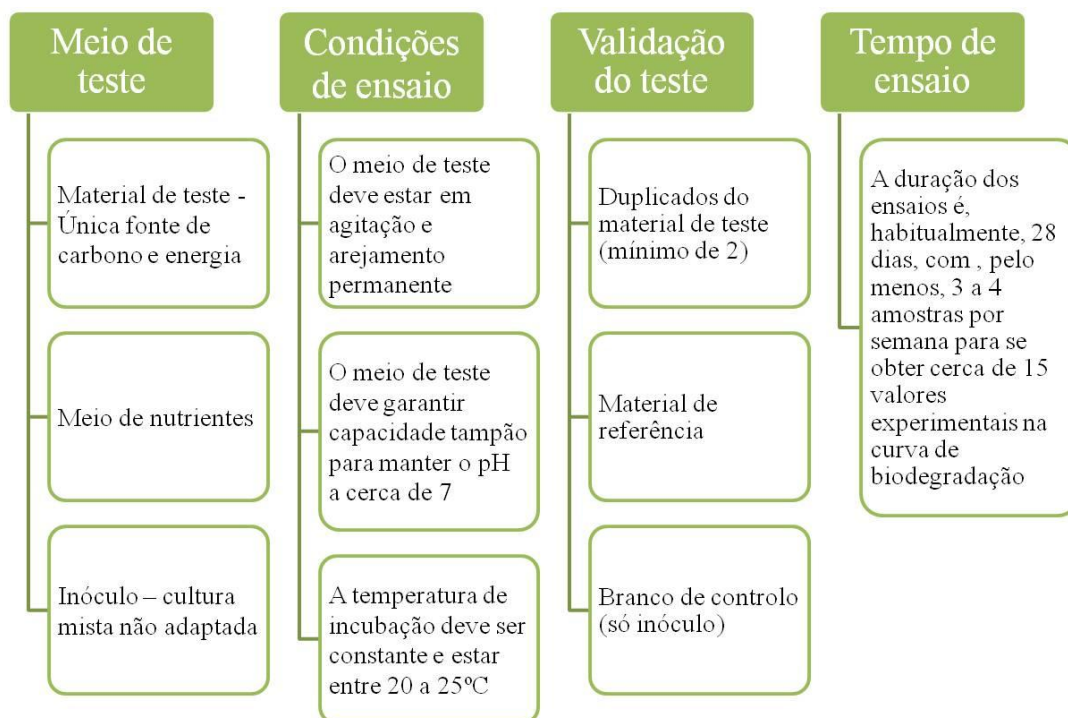
de implementar, embora forneçam resultados mais realistas. No entanto, se o resultado de um teste que avalia o potencial de biodegradabilidade for inconclusivo, deve ser desenvolvido um teste de simulação (Obayashi e Gorgan, 1985).

Dos métodos existentes para avaliação da biodegradabilidade, uns são mais simples, de aplicação mais fácil e contabilizam um menor número de parâmetros e factores, como os testes de determinação da biodegradabilidade primária. Contudo, testes de simulação são mais complexos e rigorosos, incorporando um maior número de variáveis e factores, consoante as condições ambientais a simular (Santos Oliveira, 1982; Pagga, 1997; Sawada, 1998; Metcalf e Eddy, 2003). Estas metodologias podem ser classificadas quanto ao ambiente de teste ou quanto aos parâmetros medidos.

Independentemente da tipologia do teste, alguns autores evidenciam que a natureza das condições em que decorre o teste influencia os resultados obtidos. Desta forma, é necessário promover o controlo das condições ambientais em que decorre o teste, garantindo que a população microbológica é saudável e que outros parâmetros (e.g. pH e temperatura) são cuidadosamente controlados (Obayashi e Gorgan, 1985; Pagga, 1997; Pagga, 1999).

Embora os objectivos, condições e princípios de cada teste possam orientar na escolha da metodologia a adoptar, a diversidade de testes existentes para avaliação da biodegradabilidade possibilita alguma liberdade à indústria aquando a selecção do método a utilizar (Pagga *et al.*, 1996; Pagga, 1997). Assim, torna-se apenas necessário que se proceda à realização de testes de acordo com as normas de qualidade e boas práticas laboratoriais (EN 45001:1989 e OECD 1983, respectivamente), que se atinja o limite de degradação estabelecido e que a avaliação dos resultados comprove a biodegradabilidade, assegurando que estão envolvidos apenas processos de degradação biótica. A garantia da reprodutibilidade dos resultados e da validade dos testes é, portanto, condição necessária (Pagga, 1997; Pagga, 1999).

Pagga (1997) elaborou um levantamento dos métodos normalizados para avaliação da biodegradabilidade, em meio aquoso e de compostagem. O autor, no mesmo trabalho, descreveu genericamente o princípio de cada método e produziu um resumo das condições padrão exigidas pelos testes. Um esquema descritivo das condições padrão encontra-se na figura 2.4.



**Figura 2.4.** Condições padrão dos testes aeróbios para determinação da biodegradabilidade

De um modo geral, as condições físicas e químicas a garantir nos testes aeróbios de biodegradabilidade têm como objectivo a optimização do mesmo, devendo ser definidas de maneira a não constituírem limitação ao processo de biodegradação. Para isso são estabelecidas as condições de temperatura, pH e concentração do meio de nutrientes, de modo a favorecer o crescimento e a adaptação de culturas microbianas mistas. De modo a garantir a reprodutibilidade dos resultados e a validade dos testes, devem ser feitos duplicados do material de teste e o controlo da actividade do inóculo e do material de referência.

A duração do tempo de ensaio é, geralmente, de 28 dias, de forma a assegurar o tempo necessário para a avaliação da biodegradabilidade primária. Contudo, este período pode ser mais alargado, caso o teste tenha como objectivo a avaliação da biodegradabilidade última do material.

No quadro 2.1. estão descritos os métodos mais amplamente expostos na literatura para avaliar a biodegradabilidade de compostos, em meio aquoso e de compostagem (Santos Oliveira, 1982; Pagga *et al.*, 1996; Pagga, 1997; 1999; Pagga *et al.*, 2001; OECD, 2005; McDowell *et al.*, 2006; Eubeler *et al.*, 2009).

**Quadro 2.1.** Resumo de normas existentes para avaliação da biodegradabilidade

Nome	Norma	Princípio	Valores-limite de biodegradação
<i>DOC Die-away</i>	ISO 7827 OECD 301 A	Teste em meio aquoso, aeróbio e estático, em condições padrão (Figura 2.4.). Medição da remoção de carbono orgânico dissolvido (DOC). Avaliação do teste através dos resultados das concentrações iniciais e finais de DOC.	70 %
<i>CO<sub>2</sub> evolution</i>	ISO 9439 OECD 301 B	Teste em meio aquoso, aeróbio e estático, em condições padrão (Figura 2.4.). Medição do CO <sub>2</sub>	60 %

Nome	Norma	Princípio	Valores-limite de biodegradação
		produzido biologicamente. Avaliação do teste através dos resultados de CO <sub>2</sub> e o valor teórico (ThCO <sub>2</sub> ).	
	ISO 14852	Modificação do teste para a biodegradação de polímeros. Utilização de um meio com maior capacidade tampão e temperaturas de incubação mais elevadas. Determinação da biodegradabilidade última, por maior duração do tempo de ensaio.	60% do material de referência e 90 % do material de teste
<i>Respirometric test</i>	ISO 9408 OECD 301 F	Teste em meio aquoso, aeróbio e estático, em condições padrão (Figura 2.4.). Medição da carência bioquímica de oxigénio (BOD) num sistema fechado. Avaliação do teste através dos resultados de BOD e o valor teórico (ThOD).	60 %
	OECD 301 C	Versão deste teste, para utilização no Japão (MITI-test I). Utilização de um inóculo especialmente preparado. Requisição obrigatória de análises específicas.	
	ISO 14851	Modificação do teste para a biodegradação de polímeros. Utilização de um meio com maior capacidade tampão e temperaturas de incubação mais elevadas. Determinação da biodegradabilidade última, por maior duração do tempo de ensaio.	60% do material de referência e 90 % do material de teste
<i>Closed bottle test</i>	ISO 10707 OECD 301 D	Teste em meio aquoso, aeróbio e estático, em condições padrão (Figura 2.4.). Medição da carência bioquímica de oxigénio (DBO) em garrafas fechadas e completamente cheias. Fornecimento de O <sub>2</sub> a partir do meio de teste e utilização de baixas concentrações de inóculo. Avaliação do teste através dos resultados de BOD e o valor teórico (ThOD) ou a carência química de oxigénio (COD).	60 %
<i>Modified OECD screening test</i>	ISO 7827 OECD 301 E	Teste em meio aquoso, aeróbio e estático, em condições padrão (Figura 2.4.), mas com um inóculo com baixa concentração de bactérias. Medição da remoção de carbono orgânico dissolvido (DOC). Avaliação do teste através dos resultados das concentrações iniciais e finais de DOC.	70 %
<i>Zahn-Wellens test</i>	ISO 9888 OECD 302 B	Teste em meio aquoso, aeróbio e estático, em condições padrão (Figura 2.4.), mas com elevadas concentrações de material de teste e lamas activadas. Medição da remoção de carbono orgânico dissolvido (DOC). Avaliação do teste através dos resultados das concentrações iniciais e finais de DOC. Dificuldade em diferenciar entre biodegradação e eliminação abiótica.	70 %
<i>Modified MITI test (II)</i>	OECD 302 C	Versão do teste respirométrico, para utilização no Japão. Utilização de um inóculo especialmente preparado e em concentrações que melhoram o potencial de biodegradação. Requisição obrigatória de análises específicas.	40% em 7 dias ou 65% em 14 dias
<i>Aerobic composting test</i>	ISO 14855	Teste aeróbio e estático realizado em condições de compostagem (T ≈ 60°C). Determinação da biodegradabilidade última de polímeros. Medição continua do CO <sub>2</sub> produzido num período de 45 dias.	70% do material de referência e 90 % do material de teste

As normas apresentadas no quadro 2.1. são, habitualmente, utilizadas para avaliar a biodegradabilidade primária de compostos em condições óptimas (Figura 2.4.) e estabelecem como

valores-limite de biodegradação, em 10 dias de ensaio, 60%, quando a medição é feita em relação ao consumo de O<sub>2</sub> ou libertação de CO<sub>2</sub>, ou 70% quando a medição é feita através do carbono orgânico dissolvido (COD). A este conjunto pertencem as normas de determinação da biodegradabilidade em condições aeróbias e em meio aquoso (OECD 301).

As normas referenciadas no grupo OECD 302 são normas de avaliação da biodegradabilidade inerente, com utilização de um inóculo específico (lamas activadas) e onde as concentrações de material de teste são elevadas. No caso da norma OECD 302 C o tempo de ensaio é mais restrito (7 a 14 dias), limitando por isso o valor-limite de biodegradação do material a 40% em 7 dias ou 65% em 14 dias.

Das normas de avaliação da biodegradabilidade inerente, destacam-se ainda as que determinam a biodegradabilidade de materiais poliméricos (ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 e ISO 14855-1:2005), cujos tempos de ensaio são bastante superiores (45 dias a 6 meses) e em condições de ensaio (temperatura e meio de nutrientes) adaptadas ao material de teste. Ainda relativamente às normas para os materiais poliméricos, estas referem que o teste só é considerado válido, se o valor-limite de biodegradação for 60 % (ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 ) ou 70% (ISO 14855-1:2005) para o material de referência, habitualmente a celulose. No entanto, quando avaliam o material de teste, tanto estas normas, como a norma europeia EN 13432:2000 que estabelece os requisitos para a valorização orgânica de embalagens são mais exigentes que as restantes normas e referem que o material deve atingir, após a fase estacionária, um nível mínimo de biodegradação de 90% ou o mesmo valor em relação ao material de referência.

## **2.2. Indústria do couro**

### **2.2.1. Processo de curtimento do couro**

A pele constitui a matéria-prima da indústria de curtumes, sendo, na sua estrutura primária constituída por cadeias de aminoácidos (glicina, lisina e prolina) unidos entre si. Estas cadeias de aminoácidos dão lugar a uma estrutura secundária, em forma de tripla hélice, que interage com outras cadeias através de ligações transversais. Esta série de interacções entre as cadeias de aminoácidos, dá lugar a filamentos e a fibras de colágeno, a principal proteína da pele (Convigton, 1997; Martinelango, 2002; Leather Technology Centre - BLC, 2007).

A sua estrutura confere-lhe importantes propriedades, nomeadamente uma elevada resistência ao rasgamento e uma alta capacidade de absorção de água. Por outro lado, devido à sua estrutura protéica, a pele apresenta uma baixa temperatura de contracção (40 a 60°C), pelo que é necessário estabilizar o colágeno durante o processo de curtimento, de modo a evitar a contracção da pele (Convigton, 1997; Barros *et al.*, s.d.; Martinelango, 2002). Após o processo de curtimento a pele curtida suporta temperaturas de contracção de cerca de 70 a 100°C, consoante o agente de curtimento utilizado (INESCOP, s.d.; Comunicação pessoal do Eng.º Joaquim Gaião, 3 de Outubro de 2013).

A pele não apresenta nem textura nem espessura uniformes em todas as regiões, pelo que a qualidade do couro produzido é condicionada pela qualidade da matéria-prima que lhe dá origem. O valor atribuído à pele verde depende não só da sua condição inicial, como também da sua utilização final. Tendo em conta que a aquisição da matéria-prima representa cerca de 50 a 60% dos custos de produção do couro, as características da pele sem tratamento devem ser tidas em conta consoante o

produto final (International council of tanners - ICT, 2009; Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, 3 de Outubro de 2013).

A pele sem tratamento pode ser dividida em três camadas, a epiderme, a derme e a hipoderme. Duas destas partes, a epiderme e a hipoderme, são removidas no processo de curtimento, na fase de ribeira. A derme, constituída por colagénio e elastina, pode ser dividida em duas partes, uma superior denominada de flor e uma inferior denominada de crude. A flor apresenta marcas distintivas, provenientes do estilo de vida do animal, que proporcionam uma aparência única ao couro e o crude permite alcançar elevada resistência e elasticidade devido à sua estrutura fibrosa (Barros *et al.*, s.d.; BLC, 2007; Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, 3 de Outubro de 2013).

O processo de curtimento de peles pode ser definido como a transformação de um produto natural, de modo a torná-lo imputrescível e a conferir-lhe propriedades adequadas para a sua fabricação em produtos de uso comum (INETI, 2000; BLC, 2007). Assim, o couro é considerado um material versátil, durável e privilegiado, na medida em que possibilita uma vasta gama de atributos desejáveis, tais como flexibilidade, macieza, textura, resistência ao atrito e com a possibilidade de ser preparado de modo a ser resistente ao calor e à água. Quando correctamente manipulado e mantido, o couro mantém a sua aparência e as suas propriedades funcionais (INETI, 2000; ICT, 2009; Comunicação pessoal do Eng<sup>o</sup>. Joaquim Gaião, 3 de Outubro de 2013).

Na literatura são descritos três tipos de agentes de curtimento vegetal, mineral e sintético. A curtimenta vegetal é a mais antiga e recorre a extractos vegetais para o curtume das peles. Este processo é ainda bastante utilizada na produção de solas. Contudo o facto de exigir elevados tempos de produção e a coloração característica dos produtos curtidos, que dificultam o processo de acabamento, levou à necessidade de se substituir os taninos vegetais por outro agente de curtume (INETI, 2000; Dhayalan *et al.*, 2007; Comunicação pessoal do Eng<sup>o</sup>. Joaquim Gaião, 3 de Outubro de 2013).

O curtimento com base em agentes minerais é o mais utilizado na produção de couro, sendo o principal agente de curtume o crómio (cerca de 90 %). Embora existam outros agentes de curtimento mineral como o alumínio, o zircónio, o titânio e o magnésio, nenhum consegue produzir peles com as características obtidas pelo crómio. As peles curtidas ao crómio apresentam uma coloração azul e o processo é designado de *wet-blue* (INESCOP, s.d.; INETI, 2000).

Finalmente, na curtimenta sintética usam-se como agentes alguns compostos orgânicos, os taninos sintéticos, frequentemente utilizados como agentes complementares no recurtume ou como agentes auxiliares do crómio no curtume (INETI, 2000). O processo de curtimento com este agente produz pele com coloração branca, razão pela qual o processo é designado por *wet-white* (Dhayalan *et al.*, 2007).

De modo a garantir a qualidade do produto final, é necessário garantir a estabilidade do colagénio, entre outras características físico-químicas e mecânicas (Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro e do Eng<sup>o</sup>. Joaquim Gaião, 3 de Outubro de 2013). Assim, a escolha do agente de curtimento deve ter em conta estas propriedades (Quadro 2.2.).

**Quadro 2.2.** Comportamento dos diferentes agentes de curtimento (Adaptado de Gonçalves, 2007)

<b>Agente de Curtimento</b>	<b>Estabilidade da ligação</b>	<b>Flexibilidade da ligação</b>	<b>Estabilidade térmica</b>
Crómio	Alta	Baixa	Alta
Sais metálicos	Baixa a moderada	Baixa	Baixa a muito baixa
Taninos vegetais	Moderada	Alta	Baixa
Taninos sintéticos (aldeídos e oxazolidina)	Alta a moderada	Alta	Baixa

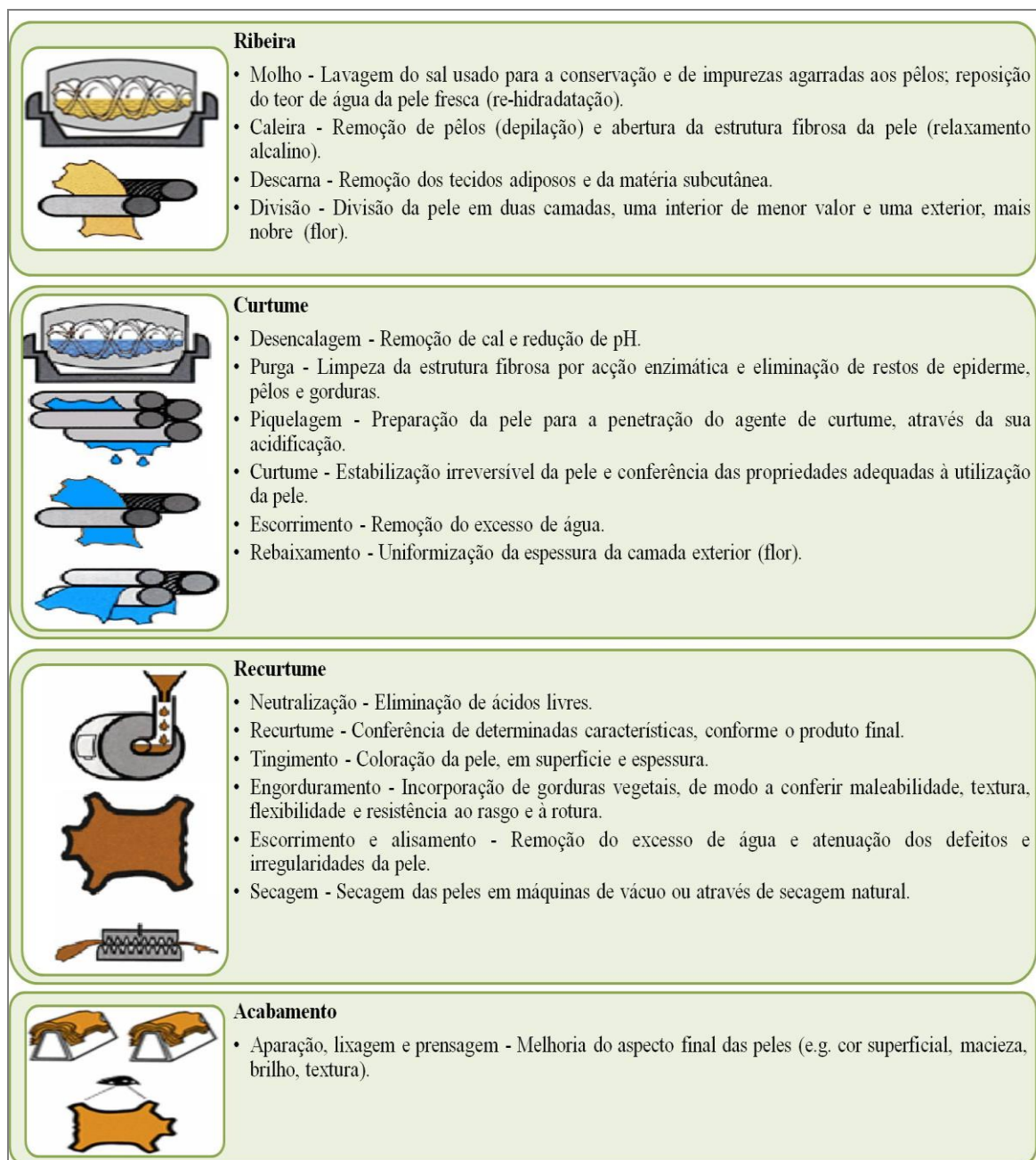
Como descrito anteriormente, o crómio é o agente de curtimento mais utilizado por garantir que o couro produzido apresenta elevada resistência térmica e elevada estabilidade da ligação com a proteína. O nível de estabilidade alcançado pelo couro fabricado pelo processo *wet-blue* assegura ainda maior resistência mecânica e de solidez à luz e ao tinto (Gonçalves, 2007; Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, 3 de Outubro de 2013).

A qualidade do couro curtido com sais metálicos está dependente do metal utilizado, sendo que o zircónio permite obter maior estabilidade na ligação ao colagénio, quando comparado com o curtimento com alumínio. Todavia, estes agentes condicionam a estabilidade térmica do material, apresentando características finais (e.g. maior rigidez, baixa solidez ao tinto) que condicionam a sua utilização (Gonçalves, 2007).

Os restantes agentes de curtimento, taninos sintéticos e vegetais, apresentam estabilidade de ligação variável, consoante o agente a utilizar, no entanto, os taninos sintéticos são os que permitem obter os melhores resultados de estabilidade de ligação ao colagénio. Contudo, tanto estes agentes como os taninos vegetais reduzem a estabilidade térmica do couro produzido, o que se traduz em temperaturas de contracção inferiores, garantindo, por sua vez, maior flexibilidade da estrutura, possibilitando a produção de couros mais macios e porosos (Gonçalves, 2007; Comunicação pessoal do Eng.<sup>o</sup> Joaquim Gaião, 3 de Outubro de 2013).

O processamento do couro é constituído por uma série de etapas a montante do processo do curtimento, que visa a preparação da pele e a jusante, cujo intuito é conferir as propriedades finais ao produto após o curtume. De um modo geral, independente do agente de curtume, o processo pode ser dividido em três fases principais (ribeira, curtume e recurtume/acabamento), cada uma subdivida em etapas secundárias (INETI, 2000; Curtumes Aveneda, 2012; Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, 3 de Outubro de 2013).

Na figura 2.5. é apresentado um esquema com uma breve descrição das fases que integram o processo de curtimento.



**Figura 2.5.** Descrição das diferentes fases do processo de curtimento (Adaptado de INETI, 2000; Curtumes Aveneda, 2012 e Euroleather, 2012.)

A primeira fase a que as peles são submetidas, denominada de ribeira, consiste numa sequência de operações em que a pele é preparada para a fase de curtume. A pele é submetida a processos químicos e mecânicos para limpeza e hidratação. Nestas fases processam-se quatro operações, duas em meio aquoso (dentro de fulões) o molho e o caleiro, e as restantes de carácter mecânico, a descarna e a divisão. A operação de molho tem como objectivos a re-hidratação e a lavagem da matéria-prima, para remoção do sal usada na conservação da mesma. De seguida, na operação de caleiro, a pele fresca é exposta a uma solução alcalina que, para além de permitir o relaxamento da estrutura fibrosa da pele, facilita a remoção dos pêlos que a matéria-prima ainda transporta. Deste modo, a pele está preparada para sofrer as operações de descarna e divisão, que têm como intuito a remoção dos tecidos da epiderme e hipoderme e a separação da derme em duas camadas, a flor e o crude (INETI, 2000; Gonçalves, 2007; Curtumes Aveneda, 2012).

Na fase de curtume, as peles provenientes da etapa de divisão, são tratadas em meio aquoso de forma a ficarem termicamente estáveis e resistentes à decomposição microbiana. Nesta fase, a pele é sujeita a uma operação de desencalagem para remoção da cal e redução do pH, seguida de uma limpeza da estrutura fibrosa por acção enzimática (purga), para eliminação dos restos de pêlos e tecidos adiposos. De modo a preparar a pele para a operação de curtume, procede-se à operação de piquelagem, que pretende criar as condições físico-químicas óptimas, nomeadamente em termos de correcção do pH, para uma eficiente difusão do agente de curtimento. Posteriormente, a pele é sujeita à operação de curtume, onde se dá a estabilização da mesma e se conferem as propriedades adequadas à sua utilização. Nesta etapa, ocorrem ainda as operações de escorrimento e rebaixamento, que tencionam remover o excesso de água que o couro transporta após o curtume e a uniformização da espessura do material (INETI, 2000; Gonçalves, 2007; Curtumes Aveneda, 2012).

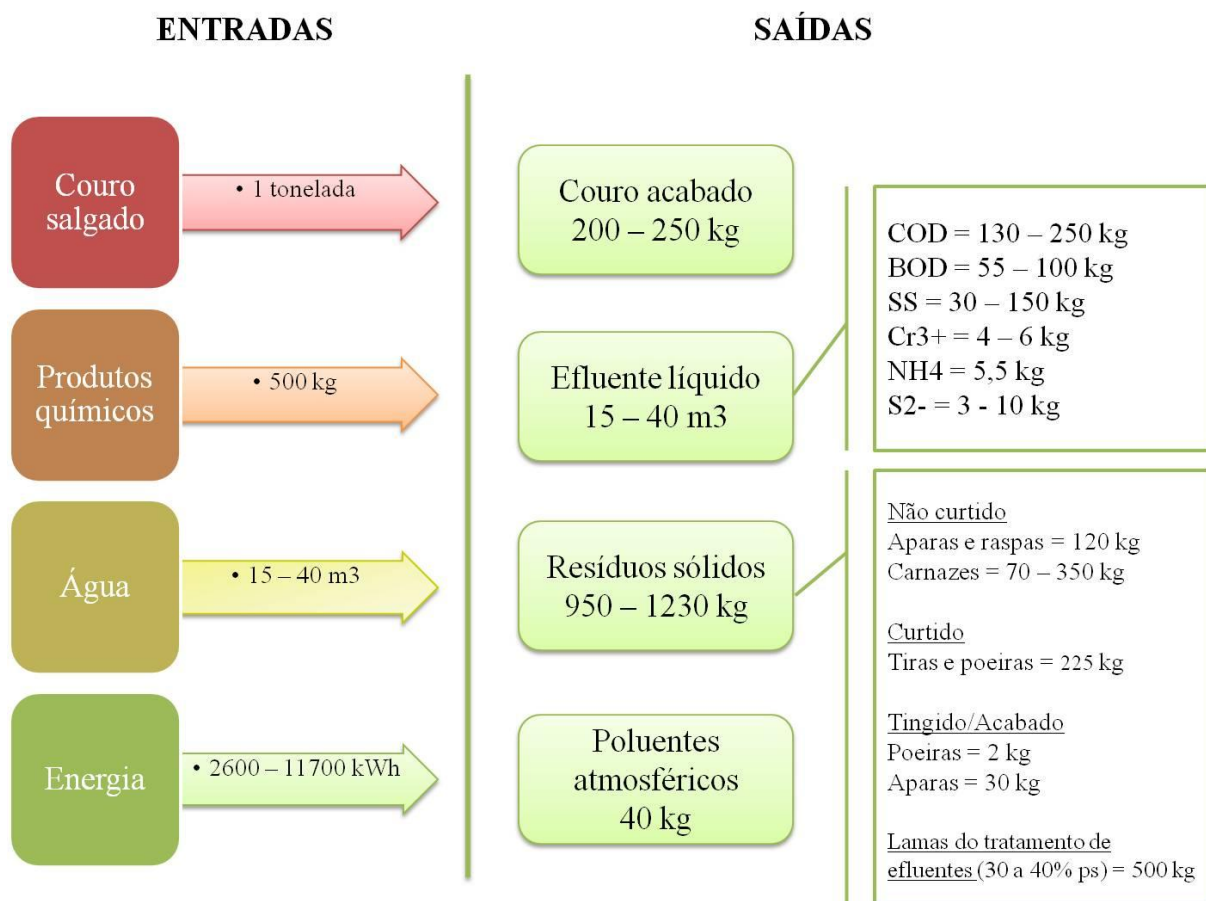
Finalmente, na fase final do processo, dá-se o recurtume e o acabamento do couro produzido. Nesta fase são realizados vários procedimentos químicos como a neutralização de ácidos livres, para posterior operação de recurtume. O recurtume tem como objectivo conferir ao couro as características adequadas, de acordo com o produto final que se pretende obter. Após esta operação, o couro é então sujeito a procedimentos de tingimento, engorduramento, alisamento e acabamento, de modo a que se possam aperfeiçoar as propriedades finais do produto a obter (INETI, 2000; Gonçalves, 2007; Curtumes Aveneda, 2012).

#### 2.2.2. Aspectos ambientais da indústria do couro

Como já foi referido anteriormente, a produção de couro tem como matéria-prima as peles de animais, geradas como subproduto da indústria da carne. Desta forma, é de destacar o facto de a indústria do couro possibilitar a reutilização de um produto, que de outra forma constituía um resíduo. Todavia, também é de evidenciar que os resíduos gerados por esta actividade industrial têm impactes ambientais variados, que podem constituir perigo, caso exista uma inadequada gestão das suas emissões (Convigton, 1997; INETI, 2000; Thanikaivelan *et al.*, 2004; Joseph e Nithya, 2009).

A descrição do processo de fabrico do couro, apresentada na secção anterior, demonstra que esta actividade industrial é fortemente geradora de resíduos sólidos e líquidos. Na figura 2.6. apresenta-se um balanço mássico simplificado das entradas e saídas de um processo convencional, tendo como base uma tolenada de peles salgadas.



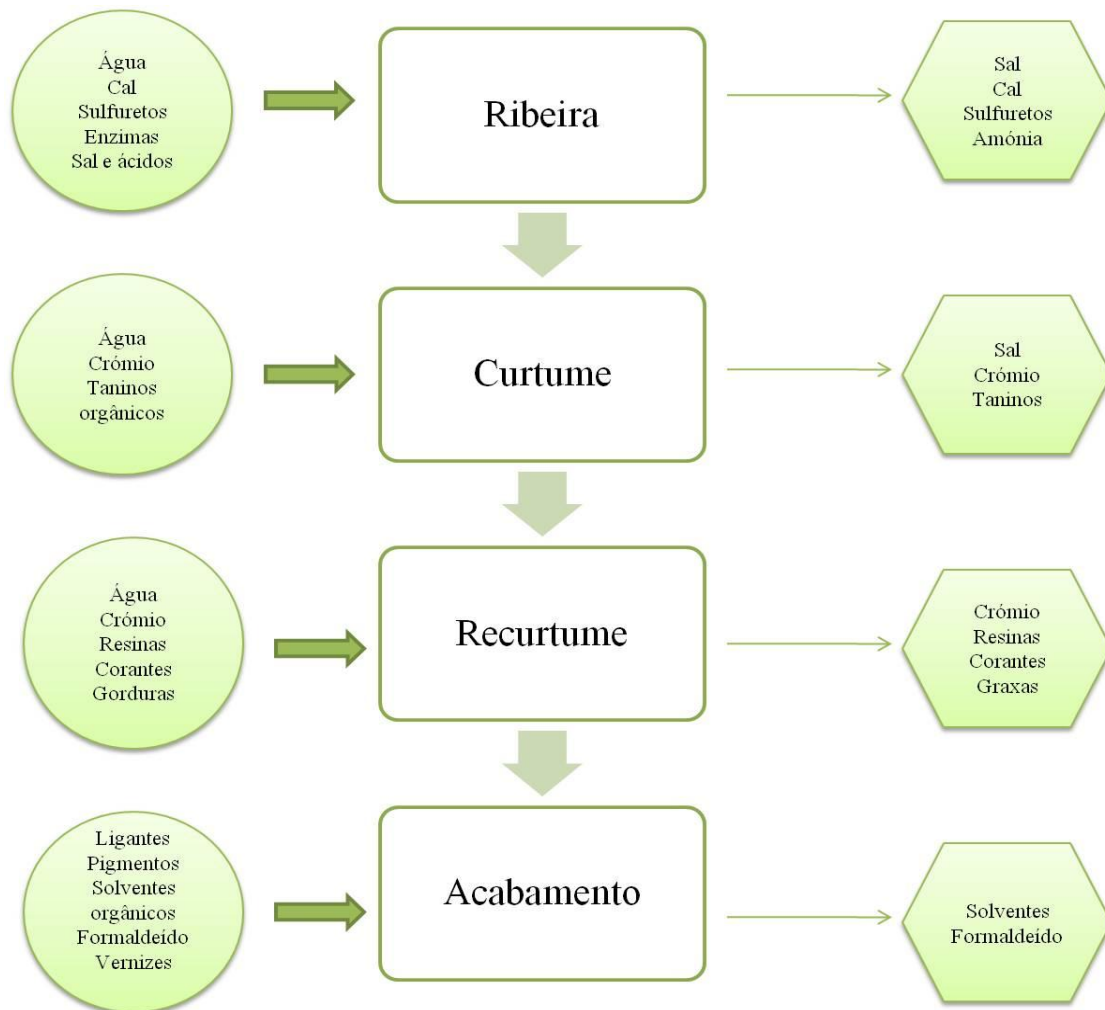


**Figura 2.6.** Fluxo básico de uma indústria de curtumes (Adaptado de IPPC, 2003)

Do processamento de uma tonelada de pele usada como matéria-prima, apenas 20 a 25 % do material é recuperado, como couro, no fim do processo. A elevada quantidade de resíduos sólidos produzidos é evidente, sendo a sua composição, maioritariamente, partes de pele que vão sendo removidas ao longo do processo produtivo. Estes resíduos são constituídos por carnazes, aparas, raspas e poeiras. Muito embora a grande maioria dos resíduos sejam produzidos nas etapas anteriores ao curtimento, existe uma quantidade significativa de resíduos (sólidos e lamas) produzidos após o curtimento e que podem ter associada uma potencial perigosidade (INETI, 2000).

Também o consumo de água associado ao processamento do couro é bastante acentuado, variando entre 15 a 40 m<sup>3</sup>/t pele salgada, onde 85% representa água de lavagens das peles entre operações e apenas 15% representa água de processo. Das diversas fases do processo, a fase da ribeira é a maior consumidora de água, tipicamente consome 18 a 35 m<sup>3</sup>/t pele salgada (INETI, 2000).

Os efluentes gerados representam o mesmo volume da água de consumo (15 a 40 m<sup>3</sup>/t pele salgada), cujas características representam elevada carga poluente devido aos reagentes utilizados ao longo do processo (Figura 2.7.). A carga orgânica das águas residuais é bastante elevada, sendo a operação de caleiro a que contribui mais expressivamente (50%). Esta operação é também responsável por mais de 60% dos sólidos em suspensão e pela totalidade de sulfuretos. A grande responsável pelo azoto amoniacal é a operação de desencalagem, enquanto que o curtume é a operação que gera cerca de 80% de crómio, quando este é o agente de curtimento utilizado (INETI, 2000).



**Figura 2.7.** Reagentes utilizados ao longo do processo de curtimento (Adaptado de Thanikaivelan *et al.*, 2004)

De acordo com Orlita (2004), dos agentes utilizados para o curtimento de peles, existem alguns que fornecem nutrientes para o crescimento microbiano, como é o caso de alguns óleos, lubrificantes ou ligantes de proteínas. Por outro lado, outras substâncias utilizadas no processo de produção do couro, como resinas, sulfuretos, crómio e formaldeído têm uma influência adversa sobre o crescimento dos microrganismos.

A utilização de determinadas substâncias químicas no processo de fabrico de artigos de couro tem vindo a ser contestada, devido à sua potencial toxicidade. Tendo em vista a segurança dos consumidores e trabalhadores, bem como os aspectos ambientais, tem sido criado, a nível europeu, um conjunto de documentos legais que restringe a utilização de uma lista de substâncias químicas em artigos de vestuário e calçado e que inclui: níquel, cádmio, aminas aromáticas, crómio hexavalente, pentaclorofenol, formaldeído e polifenilas bromadas (Fuck e Gutterres, 2008; Chattha e Shaukat, 2010; CTCP, 2012b).

Também o elevado potencial de poluição da indústria do couro e as imposições legais de controlo da poluição, têm levado ao desenvolvimento de processos e tecnologias mais limpas que visam a prevenção da poluição e o fabrico de produtos mais ecológicos (INETI, 2000). A Comissão Europeia (CE) elaborou, inclusivamente, um documento onde descreve as melhores tecnologias disponíveis para a indústria do couro, onde define os principais eixos estratégicos de actuação: matérias-primas

(pele e produtos químicos), água, resíduos sólidos e energia, para uma maior sustentabilidade deste sector industrial (IPPC, 2003).

Neste contexto, houve a necessidade de as empresas melhorarem o processo industrial e optarem pelo fabrico de materiais mais ecológicos. Implementando estratégias de marketing ambiental e integrando as temáticas de desenvolvimento sustentável e responsabilidade social, as empresas encontraram nos produtos ecológicos uma nova oportunidade de negócio (INETI, 2000; CTCP, 2012b).

### 2.2.3. Biodegradabilidade do couro

O desenvolvimento de novas tecnologias de fabrico de produtos de couro tem como principal objectivo, para as empresas, a certificação do material produzido. Desse facto advém ainda a produção de materiais, cujas características possibilitam a integração dos produtos em fim de vida e dos resíduos gerados durante o processo industrial em sistemas de tratamento (INETI, 2000; Kanagaraj *et al.*, 2006; Dhayalan *et al.*, 2007; Fuck e Gutterres, 2008).

Existem muitas alternativas e medidas para minimizar os impactes ambientais deste sector industrial, como a recuperação do material colagénico (Kanagaraj *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2010), utilização de novos corantes e produtos à base de enzimas (Thanikaivelan *et al.*, 2004; Fuck *et al.*, 2011) ou a reutilização do crómio no processo (INETI, 2000; IPPC, 2003). Todavia, é de destacar a substituição do crómio como agente de curtimento por taninos orgânicos (Convigton, 1997; INETI, 2000; IPPC, 2003; Krishnamoorthy *et al.*, 2012). O recurso a taninos orgânicos no processo de curtimento tem efeitos directos na biodegradabilidade do material e dos resíduos gerados, tendo já sido alvo de alguns estudos científicos.

A substituição do crómio por agentes de curtimento orgânicos é o primeiro grande progresso no desenvolvimento de produtos ecológicos. Analisando a possibilidade de integrar os resíduos de couro num processo de digestão anaeróbia, Dhayalan *et al.* (2007) avaliaram a produção de gás em resíduos curtidos com crómio e com taninos vegetais. Neste estudo, os autores verificaram que a produção de gás era ligeiramente superior em resíduos curtidos com taninos vegetais.

Também He *et al.* (2007) constaram que águas residuais contendo taninos vegetais são possíveis de degradar, a uma taxa que varia entre 0,61 a 0,71 d<sup>-1</sup> e com percentagens de remoção de COD que oscilam entre 45% e 51 % ao fim de seis dias, de acordo com o grau de diluição. Santos Oliveira (1982) menciona que a taxa de degradação de efluentes da curtimenta vegetal é 1,2 d<sup>-1</sup>.

Danhong *et al.* (s.d) avaliaram as diferenças entre taninos vegetais e sintéticos e constataram que, embora os agentes de curtimento vegetais e sintéticos possam ser classificados como biodegradáveis, a sua biodegradabilidade é variável consoante a sua estrutura molecular e composição química. Os mesmos autores verificaram que a biodegradabilidade dos taninos vegetais é bastante superior à dos taninos sintéticos em águas residuais provenientes da indústria do couro, no entanto não quantificaram em termos percentuais essa diferença.

O INESCOP (s.d.) elaborou um estudo para o desenvolvimento de uma tecnologia de curtimento, recorrendo à oxazolidina, um tanino sintético, como agente de curtime. Neste estudo é referido que os testes respirométricos para análise da biodegradabilidade das águas residuais produzidas revelaram que este procedimento aumenta a biodegradabilidade dos efluentes. No mesmo tipo de testes compararam o colagénio puro, usado como material de referência, com o couro curtido ao crómio e

curtido com oxazolidina. Os autores do estudo chegaram a uma biodegradação, depois de 700 horas, de 85% para o colagénio puro, 55% para o couro curtido com oxazolidina e 12% para o couro proveniente do processo com crómio.

Na ausência de metodologias de avaliação da biodegradabilidade do couro, o INESCOP desenvolveu estes testes como metodologia de avaliação da biodegradabilidade do couro, através da medição do CO<sub>2</sub> produzido. No estudo que reporta a descrição e os resultados desta metodologia, Bertazzo *et al.* (2012) estabelecem que o colagénio puro (material de referência) deve ter um grau de biodegradação de, pelo menos, 70% em 25 dias para que o teste possa ser validado. Contudo, não mencionam um nível mínimo de biodegradação que o couro deve alcançar, para que este material possa ser considerado biodegradável.

Mais recentemente, Lopes (2013) pretendendo desenvolver uma metodologia para avaliação da compostabilidade do couro, estudou a biodegradabilidade de amostras de couro em condições de compostagem e a adequabilidade do material de referência a utilizar nos mesmos ensaios. O autor estimou, em ensaios de 300 horas, valores máximos de biodegradação de cerca de 45% para a amostra de couro mais biodegradável e de 70% para a farinha de amido, tendo sido esta definida como o material de referência adequado.

## **2.3. Modelação matemática**

### **2.3.1. Fundamentos da modelação matemática**

A modelação é, segundo Nirmalakhandan (2001), o processo de aplicação de um modelo que descreva, adequadamente, o comportamento de um sistema real e que permita atingir determinados objectivos. A compreensão do comportamento dos sistemas, a exploração de novos conceitos teóricos, a previsão do desempenho do sistema e a minimização de experimentações físicas são algumas das vantagens da aplicação de um modelo matemático (Haug, 1993; Nirmalakhandan, 2001; Santo, 2001; Mason, 2006).

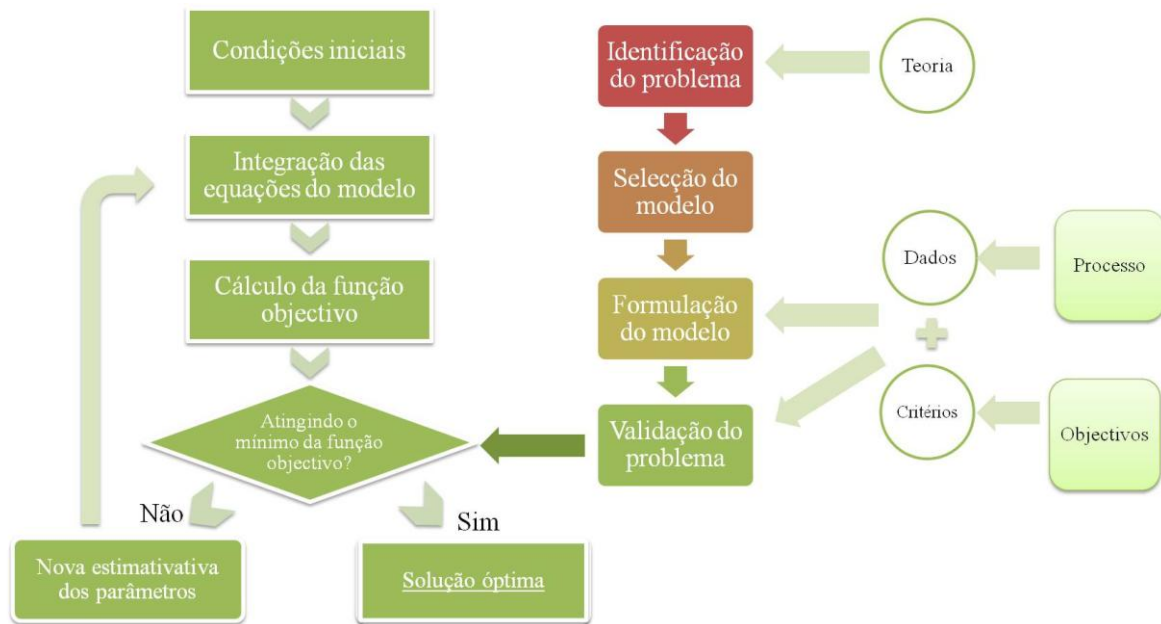
Desta forma, um modelo pode ser definido como uma representação simplificada dos processos que descrevem um sistema real, sendo constituído por um conjunto de equações que permite avaliar a relação entre variáveis (Santo, 2001; Motulsky e Christopoulos, 2003; Petric e Selimbašić, 2008).

De acordo com Rennó e Santos (2000), os modelos podem ser agrupados tendo em consideração diferentes aspectos. No quadro 2.3. encontra-se apresentada uma breve descrição de cada tipo de modelo, tendo por base os conceitos descritos por vários autores (Rennó e Santos, 2000; Nirmalakhandan, 2001; Santo, 2001; Gertsev e Gertseva, 2004).

**Quadro 2.3.** Classificação e descrição dos diferentes tipos de modelo

<b>Tipologia</b>	<b>Modelo</b>	<b>Descrição</b>
Variáveis utilizadas	Estocásticos	Estes modelos recorrem a elementos probabilísticos (estatística no tempo ou séries temporais) para prever o comportamento do sistema. São utilizados quando, pelo menos, uma das variáveis envolvidas tem comportamento aleatório e, adicionalmente, têm uma componente determinística, que permite contemplar a sequência temporal ou a sequência espacial dos valores das variáveis.
	Determinísticos	Neste tipo de modelos os resultados são determinados a partir das condições iniciais, não havendo recorrência a elementos probabilísticos, pelo que pressupõem um total conhecimento do sistema.
Relação entre variáveis	Empíricos	Estes modelos utilizam relações baseadas em observações, ou seja, a análise dos processos reduz-se à procura de uma relação causa-efeito entre as variáveis de entrada (dados de base) e as variáveis de saída (resultados obtidos). De um modo geral, são de grande simplicidade e utilidade, contudo pouco robustos dado que são específicos para a situação para a qual as relações foram estimadas.
	Conceptuais	Este tipo de modelos é uma representação simplificada de parte ou da totalidade dos processos do sistema. Dado a sua complexidade, requerem um conjunto de informações e uma parametrização cuidada, com base em resultados obtidos experimentalmente.
Representação dos dados	Discretos	Este tipo de modelos representa fenómenos cuja variação é apresentada em intervalos de tempo. Em geral, quanto menor o intervalo de tempo maior será a precisão dos resultados do modelo.
	Contínuos	Modelos que representam fenómenos cuja variação é contínua.
Relação espacial	Pontuais	Os modelos pontuais (concentrados ou agregados) consideram que as variáveis de entrada e saída são representativas de toda a área estudada.
	Distribuídos	Estes modelos consideram a variabilidade espacial encontrada nas diversas variáveis do modelo, ou seja, cada elemento disposto num determinado espaço pode ser tratado como um ponto que representa homogeneamente toda a sua área.
Dependência temporal	Estáticos	Os modelos estáticos representam um fenómeno particular, num determinado ponto temporal.
	Dinâmicos	Estes modelos utilizam o resultado de uma iteração como entrada para uma próxima iteração. Analisam a evolução temporal das diferentes variáveis.

A necessidade de elaborar um modelo que descreva um determinado fenómeno ou sistema, com determinado nível de detalhe ou escala temporal, segue um procedimento que se divide em quatro etapas fundamentais, como demonstra a figura 2.8. (Santo, 2001; Ferreira, 2006).



**Figura 2.8.** Esquema representativo das etapas de construção e de optimização de um modelo (Adaptado de Vanrolleghem *et al.*, 2003; Hamelers, 2004)

Primeiramente, é necessário identificar o problema e efectuar uma pesquisa rigorosa para conhecimento da relação entre variáveis, de modo a se proceder à selecção do modelo matemático, que melhor descreve o processo e os objectivos em estudo. De seguida, procede-se à formulação do modelo, descrevendo a complexidade das formulações matemáticas envolvidas e indicando as variáveis a otimizar e os parâmetros a estimar. Finalmente, é possível proceder à aplicação do modelo para obtenção de um conjunto de resultados, cuja interpretação é essencial para verificar a sua concordância com os resultados experimentais (Santo, 2001; Motulsky e Christopoulos, 2003; Hamelers, 2004).

Segundo Ferreira (2006), efectuada a formulação do modelo, outros aspectos devem ser tidos em conta, uma vez que a incerteza associada aos resultados da aplicação de cada modelo dependem não só da estrutura do modelo seleccionado, como também dos dados de entrada e dos valores iniciais adoptados para os parâmetros que representam o sistema. Assim, a implementação de parâmetros e condições iniciais que sejam previsíveis é crucial para a optimização de um modelo, contudo exigem a necessidade de se efectuar uma primeira abordagem empírica às condições iniciais do sistema.

Vanrolleghem *et al.* (2003) referem que a optimização do processo de modelação consiste, essencialmente, em minimizar a função objectivo até um determinado grau de precisão, através de algoritmos matemáticos específicos. No entanto, este procedimento poderá ter um elevado grau de complexidade associado, quando existe um elevado número de parâmetros a estudar ou dada a natureza conceptual do modelo. Assim, por vezes, torna-se impossível obter uma única combinação de parâmetros que descrevam correctamente o comportamento do sistema.

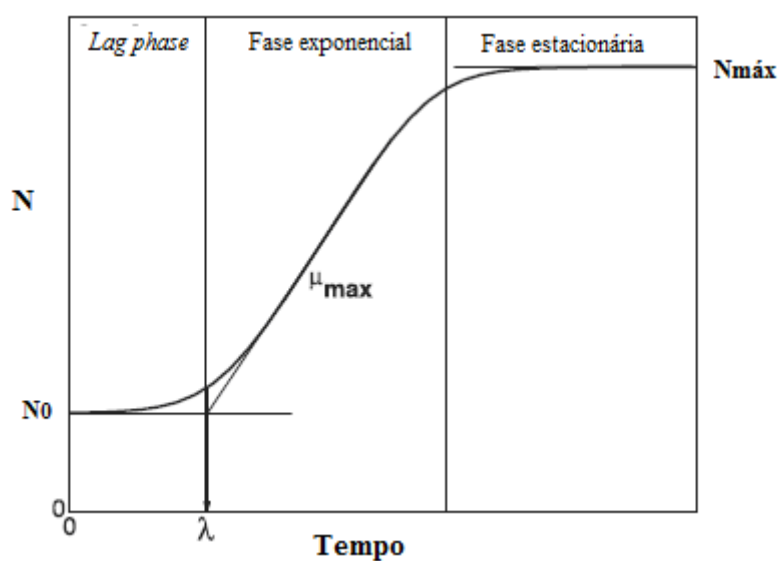
Os mesmos autores mencionam ainda que, sempre que o procedimento de calibração de um modelo se torne inviável pela determinação de soluções múltiplas, deve-se proceder, apenas, à alteração dos parâmetros sensíveis aos testes efectuados durante a calibração do modelo. Assim, torna-se indispensável reunir o máximo de informação possível que auxilie na elaboração de combinações de parâmetros realistas.

### 2.3.2. Aplicação de modelos matemáticos ao processo de biodegradação

A modelação matemática é, vulgarmente, utilizada para descrever e simular sistemas ambientais, onde os processos inerentes são de elevado grau de complexidade. Os modelos matemáticos podem integrar balanços de massa e energia e a cinética de degradação do substrato, envolvendo expressões analíticas mais ou menos complexas, consoante o grau de especificidade do modelo (Kaiser, 1996; Hamelers, 2004; Mason, 2006).

No caso dos processos de biodegradação a cinética tem um papel fundamental, na medida em que permite estimar a velocidade a que os microrganismos degradam determinado substrato e o tempo necessário para se atingir um determinado grau de estabilização da matéria orgânica. Este comportamento é de extrema importância no desenvolvimento e operação de sistemas de tratamento, fornecendo uma base racional para a análise do processo e para o seu dimensionamento e controlo (Haug, 1993; Bernal *et al.*, 1998; Lasaridi e Stentiford, 1998; Sole-Mauri *et al.*, 2007).

Como já foi descrito, o processo de biodegradação aeróbia corresponde ao consumo de um substrato por uma população microbiana. Assim, a aplicação de modelos que representem o crescimento microbiano ou que associem o consumo de  $O_2$  ou libertação de  $CO_2$  ao metabolismo microbiano permite avaliar a cinética de degradação do substrato. A curva típica que descreve o crescimento microbiano encontra-se na figura 2.9.



**Figura 2.9.** Curva típica de crescimento microbiano (Adaptado de Swinnen *et al.*, 2004)

Como se pode verificar, através de uma análise visual, a curva que representa o crescimento microbiano (N) ao longo do tempo está dividida em três fases, a *lag phase*, a fase exponencial e a fase estacionária. O comportamento desta curva depende das características da população microbiana e das condições do meio de crescimento. A *lag phase* é o período de adaptação da população ao meio de crescimento ( $\lambda$ ), a fase exponencial representa o período de crescimento da população e, finalmente, a fase estacionária é caracterizada pela interrupção do crescimento microbiano devido à falta de nutrientes ou à presença de substâncias inibidoras. A diferença entre o crescimento máximo atingido ( $N_{máx}$ ) e crescimento no tempo inicial ( $N_0$ ) num determinado período de tempo representa a taxa máxima de crescimento da população microbiana ( $\mu_{máx}$ ) (Soler, 2008).

Têm sido realizadas várias tentativas para obter expressões que descrevam as curvas de crescimento dos microrganismos em termos cinéticos. A justificação para a respectiva escolha está dependente das variáveis a estimar, dos objectivos do modelo e da utilização final do mesmo (Ferreira, 2006).

A revisão da literatura mostra que a cinética de primeira ordem é a forma mais comum de descrever o processo de degradação de substratos. De acordo com Stow *et al.* (1999) este é também o modelo mais usado para descrever processos fundamentais, como reacções químicas ou o decaimento nuclear. No entanto, os mesmos autores elucidam para o facto de os processos ambientais representarem um conjunto de reacções individuais, que ocorrem a uma escala diferente das reacções químicas, podendo ser melhor representados por um modelo multi-exponencial.

De facto, modelos multi-exponenciais encontram-se também, muitas vezes, descritos na literatura para o estudo de reacções cinéticas. Vários autores referem que estes modelos se ajustam melhor aos dados experimentais quando se combinam duas reacções cinéticas (Levenspiel, 1999; Borsuk e Stow, 2000; Mason, 2008)

Santos Oliveira (1982) referencia o modelo desenvolvido por Tischler e Eckenfelder (1968), que se baseia no facto de as substâncias orgânicas serem removidas simultaneamente, a taxas diferentes, considerando uma cinética de ordem zero para concentrações muito baixas, quando se considera uma cultura mista adaptada. Os autores do modelo mencionam ainda que, para substratos complexos, a reacção global de degradação pode ser descrita através de uma equação de primeira ordem ou de segunda ordem. Aplicando-se a reacção de segunda ordem quando, um ou mais, componentes do substrato apresentam uma taxa de degradação muito baixa.

Borsuk e Stow (2000) referem que a complexidade do processo de biodegradação leva à interacção entre populações mistas e substratos não uniformes, que podem ter influência na taxa de reacção. Assim, os autores relatam que um modelo que considere o somatório de reacções cinéticas de primeira ordem, onde cada uma representa uma população que degrada um tipo de substrato específico e a velocidades diferentes, é a melhor forma de descrever estas interacções.

Avaliando a distinção entre componentes de um substrato, diversos estudos têm sido feitos recorrendo a modelos multi-exponenciais. Bernal *et al.* (1998), Tosun *et al.* (2008) e Ponsá *et al.* (2011) avaliaram as fracções facilmente e dificilmente biodegradáveis de resíduos orgânicos no processo de compostagem, recorrendo a dois modelos multi-exponenciais. Os modelos aplicados resultaram da combinação de duas equações de primeira ordem ou de duas equações cinéticas de ordem diferente, tendo revelado um bom ajuste aos dados experimentais.

A aplicação de uma abordagem dupla exponencial foi também usada por Haug (1993) e Mason *et al.* (2006) para a análise de dados de consumo de oxigénio a partir de testes respirométricos. Tanto Haug (1993) como Mason *et al.* (2006) constaram que a precisão do ajuste por este modelo era superior ao ajuste com o modelo exponencial de primeira ordem.

Outros modelos do tipo Monod ou que representam funções sigmoidais foram também adoptados para modelar o crescimento microbiano. Simkins e Alexander (1984) fizeram um estudo comparativo de seis modelos de mineralização da matéria orgânica derivados da equação de Monod, sendo eles: ordem zero, Monod sem crescimento, primeira ordem, logístico, Monod com crescimento e logarítmico. Também Zwietering *et al.* (1990) elaboraram um estudo comparativo do crescimento de bactérias em solução pela aplicação dos modelos logístico, de Gompertz, de Richards, de Schnute e de Stannard.



Recorrendo a métodos respirométricos para avaliar a biodegradabilidade de compostos, Reuschenbach *et al.* (2003) modelaram as curvas de biodegradação através da cinética de primeira ordem e do modelo logístico. Também Fan *et al.* (2004) aplicaram os modelos de Gompertz e de Richards para avaliar a biodegradação do ácido ftálico por culturas de bactérias aeróbias.

Mais recentemente, procedendo à análise da degradação de resíduos no processo de compostagem, Chang *et al.* (2006) e Mason (2006; 2008) procederam ao ajuste do modelo de Gompertz, tendo verificado uma boa precisão de ajuste dos resultados modelados aos resultados experimentais.

Como foi referido acima, a escolha do modelo está dependente de uma diversidade de factores, pelo que o modelo será mais complexo se existir maior número de variáveis a estudar e parâmetros a estimar.

Os modelos cinéticos de primeira ordem são muito usados devido à sua facilidade de aplicação e à informação que disponibilizam. Estes modelos permitem estimar o tempo necessário para se alcançar um determinado nível de estabilização, apresentando assim a informação mais importante para a optimização de sistemas de tratamento (Stow *et al.*, 1999).

No entanto, existe a necessidade de, por vezes, se estimar com maior detalhe o comportamento das populações microbianas, como por exemplo, a presença de substâncias inibidores ou a duração da *lag phase*. Neste caso, é necessário recorrer-se a modelos do tipo Monod ou que caracterizam funções sigmoidais (Gompertz, Richards ou logística), uma vez que permitem a estimação dos parâmetros associados a estes factores. Todavia, estas equações dificultam o processo de optimização do modelo, uma vez que exigem mais parâmetros e/ou a estimativa do crescimento inicial da população microbiana (Davey e Daughtry, 1994; Swinnen *et al.*, 2004; Mason, 2006, 2008; Soler, 2008).



# Capítulo 3

## Plano experimental

As actividades experimentais desenvolvidas para o cumprimento dos objectivos da presente dissertação dividiram-se em três tipos de ensaio.

Os ensaios E.I foram realizados com o intuito de desenvolver o método expedito, através da avaliação do comportamento do sistema a alterações na quantidade de amostra a utilizar e da determinação do material de referência adequado para definir a biodegradabilidade de materiais de couro.

Os ensaios E.II tinham como objectivo a avaliação da biodegradabilidade primária das amostras de couro e a influência, neste parâmetro, das alterações no processo de fabrico.

Os ensaios E.III tinham como finalidade a modelação dos resultados experimentais, tendo para isso sido efectuado o prolongamento dos ensaios, de modo a se determinar a biodegradabilidade última das amostras de couro.

No quadro 3.1. encontra-se descrito o plano experimental executado no desenvolvimento deste trabalho.

**Quadro 3.1.** Plano experimental

<b>Ensaio</b>	<b>Objectivos</b>		<b>Descrição</b>
E.Ia	Desenvolvimento do método expedito	Avaliação do comportamento do sistema a alterações na concentração de substrato	Avaliação com base na medição do consumo de O <sub>2</sub> (EN 16087-1:2011). Utilização de diferentes concentrações de amostra.
EI.b		Definição do material de referência adequado	Avaliação com base na medição do consumo de O <sub>2</sub> (EN 16087-1:2011). Utilização de três materiais de referência.
E.II	Avaliação da biodegradabilidade das amostras de couro	Caracterização da influência, na biodegradabilidade primária, das alterações no processo de fabrico	Avaliação com base na medição do consumo de O <sub>2</sub> (EN 16087-1:2011) durante 7 dias.
E.III	Modelação dos resultados experimentais	Determinação da biodegradabilidade última das amostras de couro	Avaliação com base na medição do consumo de O <sub>2</sub> (EN 16087-1:2011). Prolongamento do tempo de ensaio até 18 dias.

# Capítulo 4

## Materiais e Métodos

### 4.1. Método expedito

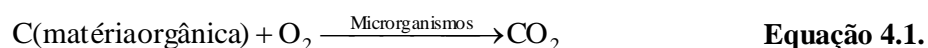
#### 4.1.1. Descrição do sistema OxiTop®

O sistema de medição OxiTop® foi desenvolvido pela WTW, em Giessen, Alemanha e é, frequentemente, utilizado para análises de água através da avaliação da BOD (WTW, s.d.; Kuokkanen *et al.*, 2004; O'Malley, 2006). Contudo, o mesmo sistema tem também sido empregue para avaliação da estabilidade do composto (Iannotti *et al.*, 1993; Lasaridi e Stentiford, 1998; Veeken *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2006; Sadaka *et al.*, 2006).

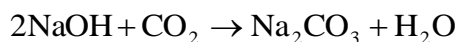
Este sistema é fácil de manusear, relativamente barato e os valores de pressão podem ser consultados em qualquer momento durante o período de teste (Veeken *et al.*, 2003).

O equipamento baseia-se no princípio da medição da queda de pressão num sistema fechado, onde a amostra está diluída num meio nutriente favorável para a actividade biológica (Veeken *et al.*, 2003; Sadaka *et al.*, 2006). Para a determinação da biodegradação (em percentagem), o consumo acumulado de O<sub>2</sub> é, posteriormente, comparado com os valores teóricos (ThOD) calculados pela composição química do material em estudo (Sawada, 1998; Pagga, 1999; Kuokkanen *et al.*, 2004).

As leituras efectuadas a partir do sensor de pressão são medições directas da queda de pressão que se verifica na fase gasosa ao longo do tempo. Esta variação de pressão pode ser relacionada com o consumo de O<sub>2</sub>, devido ao facto de o CO<sub>2</sub> ficar retido nos reservatórios de NaOH. Isto porque quando os microrganismos no meio aquoso começam a consumir O<sub>2</sub> (Equação 4.1.), o CO<sub>2</sub> é libertado na fase gasosa (WTW, s.d.; Veeken *et al.*, 2003).



Nesta fase, o NaOH reage com o CO<sub>2</sub> de acordo com a equação:



**Equação 4.2.**

Esta reacção proporciona uma queda de pressão, uma vez que o CO<sub>2</sub> que é libertado para a fase gasosa e é captado pelo NaOH, tem uma relação estequiométrica directa com o O<sub>2</sub> que está disponível no sistema.

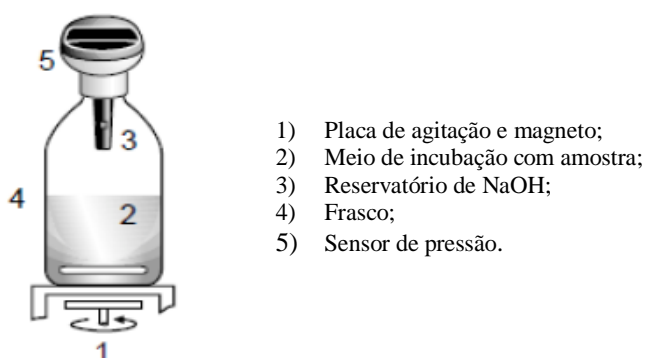
Todavia, é importante garantir que o meio de incubação mantém condições essenciais para o desenvolvimento e respiração da população microbiana: pH entre 6,5 e 7,5, disponibilidade de nutrientes, inibidores de nitrificação e agitação constante (WTW, s.d.; EN 160871-1, 2011).

De modo a garantir o contacto permanente entre a amostra, os microrganismos e o O<sub>2</sub>, este método deve ser usado na fase líquida. Assim, é possível reduzir o período de teste, por se atingirem taxas máximas de reacção (Lasaridi e Stentiford, 1998).

A transferência de difusão de O<sub>2</sub> entre as fases gás-líquido é suprimida devido à agitação constante, garantindo-se assim que a pressão parcial de O<sub>2</sub> na fase gasosa é igual à pressão parcial de O<sub>2</sub> na fase líquida (WTW, s.d.).

Contudo, neste sistema, as taxas de transferência de O<sub>2</sub> do gás para a fase líquida devem ser garantidas, de modo a assegurar que as condições aeróbias na fase líquida são mantidas. Assim, este teste apresenta como limitação o facto da percentagem de O<sub>2</sub> presente na fase gasosa não ser inferior a 10-20%. Também as taxas de absorção de CO<sub>2</sub> devem ser asseguradas, através da disponibilidade de NaOH suficiente para evitar a acumulação de CO<sub>2</sub> no topo do reactor (Veeken *et al.*, 2003). Com base nestes fundamentos, estudos preliminares foram efectuados para verificar se a quantidade de NaOH utilizada no ensaio seria suficiente para garantir a reacção com o CO<sub>2</sub> libertado e determinar a partir de que valores de pressão é que o oxigénio se tornava limitante para o processo. Assim, Chocalheiro (2012) concluiu que a quantidade de pastilhas de NaOH utilizadas no ensaio é suficiente para assegurar que não há acumulação de CO<sub>2</sub> no reactor, tendo também verificado que, para que não houvesse limitação de O<sub>2</sub> no meio gasoso, os valores de pressão não podiam ser menores que -110 hPa a -120 hPa.

Um esquema do equipamento é apresentado na figura 4.1.



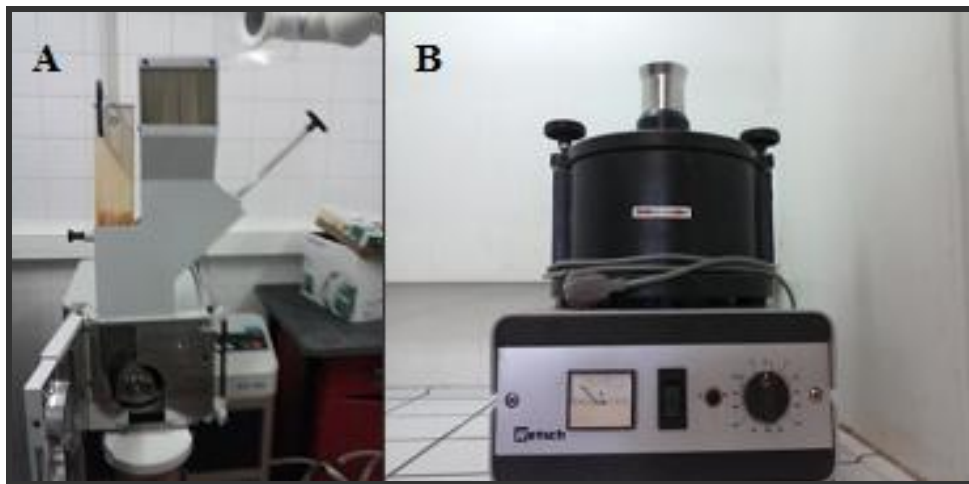
**Figura 4.1.** Esquema do sistema OxiTop® (Adaptado de Reuschenbach *et al.*, 2003)

#### 4.1.2. Preparação das amostras e do meio de incubação

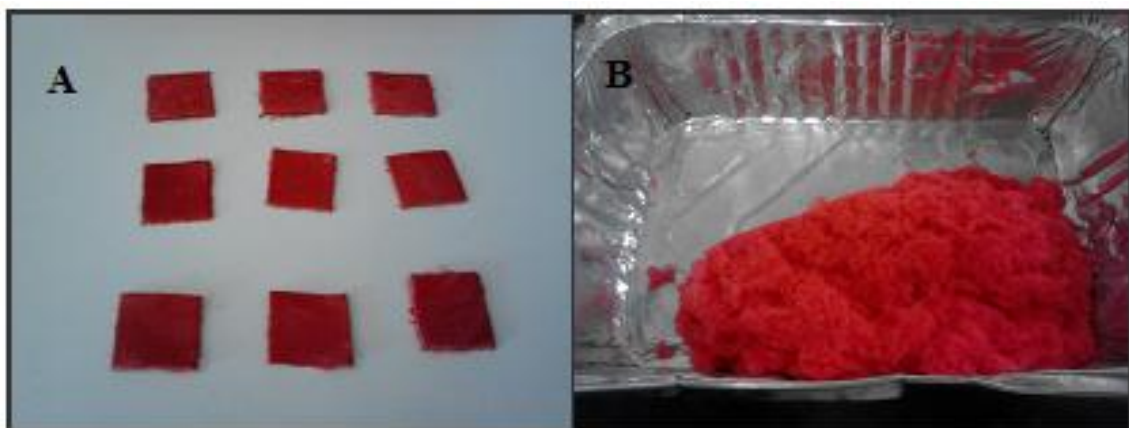
As amostras foram preparadas de modo a serem caracterizadas em termos de pH, condutividade, humidade, teor em cinzas, análise elementar e metais. Para isso, as amostras foram trituradas no triturador Retsch SM 300, passando pelos crivos de 10 mm, 1 mm e 0,2 mm. A utilização de 0,2 mm como granulometria do material foi definida com base em estudos preliminares, que tinham como objectivo averiguar a influência da granulometria na optimização do sistema. Deste modo, Ceola (2009) verificou que a redução do grão do material permitia restringir o número de réplicas necessárias e aumentava a reprodutibilidade dos resultados. Ceola (2009) justifica esta melhoria de resultados, com o facto de uma menor granulometria da amostra assegurar a homogeneização da mesma com o meio de incubação, minimizando as limitações de transferência sólido-líquido.

Relativamente ao inóculo, este também foi homogeneizado e triturado a 1 mm no triturador Retsch Type ZM1.

Nas figuras seguintes apresentam-se os equipamentos de trituração (Figura 4.2.) e o aspecto de uma amostra de couro antes de ser processada e depois de triturada a 0,2 mm (Figura 4.3.).



**Figura 4.2.** Trituradores utilizados para processamento das amostras (A) e do inóculo (B)



**Figura 4.3.** Aspecto da amostra 26 antes (A) e depois da trituração (B) a 0,2 mm

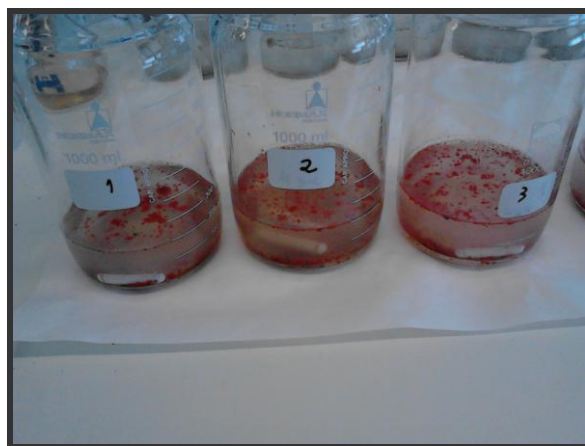
Por último, a norma EN 16087-1:2011 estabelece as soluções a preparar, previamente, de modo a assegurar as condições óptimas do meio de incubação - pH neutro, disponibilidade de nutrientes e inibição da nitrificação. Para tal, foram preparadas as seguintes soluções:

- Solução tampão de pH (A):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (86 g/L),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (89 g/L). As duas soluções devem ser preparadas num rácio de 1:4 para estabilizar o pH a 7.
- Solução de macronutrientes (B):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (4,3 g/L),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (5,4 g/L),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (4,3 g/L) e  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,03 g/L).
- Solução de micronutrientes (C):  $\text{MnSO}_4$  (1,4 g/L),  $\text{CuSO}_4$  (0,2 g/L),  $\text{ZnSO}_4$  (1,1 g/L),  $\text{Na}_2\text{H}_4\text{BO}_7$  (4,2 g/L),  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  (0,13 g/L), agente quelante de ferro EDDHA 6% (5,0 g/L) e 36% HCl (1 mL/L).
- Solução de nutrientes (B+C): 1 mL de solução de micronutrientes (C) para 1 L de solução de macronutrientes (B).
- Inibidor de nitrificação ATU (D): N-Allylthiourea,  $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$  (4 g/L).

#### 4.1.3. Procedimento experimental

Pesou-se a amostra e o inóculo para frascos de vidro esterilizados de capacidade de 1 L. O peso das amostras foi definido tendo em conta a capacidade volumétrica dos frascos.

Seguidamente foram adicionados 180 mL de água destilada, 10 mL de solução de nutrientes (B + C), 10 mL de solução tampão de pH e 2,5 mL de ATU. Foram também adicionados os magnetos e acoplados, aos frascos, os reservatórios com as pastilhas de NaOH (Figura 4.4.).



**Figura 4.4.** Preparação do ensaio

Finalmente, os frascos foram colocados a agitar, ainda abertos, numa câmara de incubação - Aqualytic AL658G, a 30°C durante um período de 4 horas, de modo a garantir a homogeneidade do meio e a adaptação à temperatura de ensaio. Passado este período de agitação, os frascos foram fechados, colocando os sensores de pressão, de modo a dar-se início ao ensaio e ao registo dos valores de pressão, durante um período de sete dias (Figura 4.5.).





**Figura 4.5.** Incubação do ensaio antes (A) e após o período de agitação inicial (B)

#### 4.2. Materiais de estudo e inóculo

Como material de estudo foram usadas dez amostras de couro, curtidas com taninos sintéticos e com alterações no processo de fabrico, nomeadamente nas etapas de recurtume e acabamento. A descrição das respectivas amostras encontra-se no quadro 4.1.

**Quadro 4.1.** Descrição das amostras de couro

Amostra	Descrição
11	Pele curtida com o processo <i>wet-white</i> e recurtume.
15	Pele curtida com o processo <i>wet-white</i> e recurtume alternativo ao da amostra 11.
20	Pele curtida com o processo <i>wet-white</i> , com substituição dos agentes de recurtume da amostra 15, com concentração residual de formaldeído e tingimento cor-de-laranja.
21	Amostra igual à amostra 20, mas sem tingimento.
22	Amostra igual à amostra 20, mas com mais uma operação de lavagem para reduzir o formaldeído.
23	Amostra desenvolvida para solas, com combinação de taninos sintéticos e vegetais como agente de recurtume.
24	Amostra igual à amostra 23, mas com acabamento <i>beige</i> .
25	Amostra igual à amostra 20, mas com acabamento rosa.
26	Amostra igual à amostra 20, com tingimento rosa e acabamento encerado e acerto de cor.
27	Amostra igual à amostra 26, mas sem acerto de cor.

A amostra 11 é a amostra de base que a empresa ANC concebeu recorrendo a um processo de curtume livre de metais pesados. Tendo como objectivo testar a influência na biodegradabilidade das modificações efectuadas ao longo da cadeia de fabrico das amostras, foi desenvolvida a amostra 15, onde se substituiu os agentes de recurtume da amostra 11, por um agente alternativo.

De acordo com a Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro (3 de Outubro de 2013) os testes de qualidade do material de couro realizados à amostra 15 revelaram elevados níveis de formaldeído, o que inviabilizava a comercialização desta amostra. De referir que as exigências legais apontam para um nível máximo de formaldeído de 150 ppm para calçado de adulto e de 20 a 50 ppm para calçado de bebés (Fuck e Gutterres, 2008).

Assim, foram desenvolvidas amostras com níveis mais reduzidos de formaldeído (A20 e A22). Na amostra 20 o agente de recurtume utilizado continha concentrações de formaldeído reduzidas e a amostra foi ainda sujeita a tingimento cor-de-laranja. No caso da amostra 22, embora tenha por base o processo de recurtume da amostra 20, esta não foi tingida com corantes e passou por uma operação extra de lavagem, para redução do teor em formaldeído.

As amostra 21 e 25 surgiram dos bons resultados obtidos, pela amostra 20, aos testes de qualidade do material. Estas serviram para avaliar a influência da ausência de tingimento (amostra 21) e dos acabamentos com corantes metálicos (amostra 25) na qualidade do produto obtido e do nível de biodegradação alcançado.

As amostras 23 e 24 foram desenvolvidas tendo em atenção a necessidade de se proceder ao fabrico de solas, que apresentassem níveis de biodegradação idênticos aos das peles utilizadas nos sapatos. Assim, estas amostras foram desenvolvidas a partir de um novo processo de recurtume, que combinava taninos vegetais e sintéticos. A única diferença entre as amostras 23 e 24 foi o acabamento *beige* a que a amostra 24 foi sujeita (Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, 3 de Outubro de 2013).

As amostra 26 e 27 foram sujeitas a acabamentos encerados e tingimento rosa, sendo que no caso da amostra 26 houve ainda um acerto de cor, para melhoria do produto final.

Adicionalmente, foram também usados materiais de referência de modo a verificar a actividade do inóculo e a validar os resultados do teste. Os materiais de referência usados foram pele sem tratamento (PST), amido de arroz (Globo®) e celulose (Cellulosepulver MN 301).

A PST foi utilizada por representar a matéria-prima do couro e, conseqüentemente, ser expectável que defina o valor máximo de biodegradação que os materiais de couro conseguem alcançar. A equipa de Bertazzo *et al.* (2012) também estudou a biodegradabilidade do couro, num ensaio adaptado das normas referentes aos materiais poliméricos em meio aquoso e o colagénio puro foi escolhido como material de referência. Embora a PST represente a pele fresca, com uma quantidade significativa de humidade, este material foi utilizado com uma percentagem residual de humidade, uma vez que o processamento deste material inviabilizou a sua utilização com humidade tal e qual.

A celulose foi usada pois, dada a inexistência de normas que definam testes de biodegradabilidade para o couro, foram analisadas as normas que estabelecem os limites de biodegradação para os plásticos (ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 e ISO 14855-1:2005) e que referem a mesma como material de referência. O amido de arroz foi utilizado por representar um polissacarídeo de glucose, tal

como a celulose, contudo com uma estrutura menos rígida e, possivelmente, mais susceptível ao ataque microbiano (Chandra e Rustgi, 1997).

O inóculo usado nos ensaios é o composto proveniente de uma estação de tratamento mecânico e biológico de resíduos sólidos urbanos (RSU), maturado e sem ter sido exposto às condições do teste, portanto, não adaptado. A quantidade de inóculo utilizada (0,1 g) serviu para aumentar a reprodutibilidade dos resultados e reduzir a duração da fase de latência do material de estudo (Chocalheiro, 2012). O inóculo utilizado foi caracterizado em termos de humidade e teor em cinzas.

Os restantes materiais de estudo (amostras de couro e materiais de referência), foram caracterizados em termos de humidade, teor em cinzas e composição elementar. Adicionalmente, as amostras de couro foram também caracterizadas em termos de pH, condutividade e metais.

No quadro 4.2. indicam-se os métodos de análise utilizados para os diferentes parâmetros.

**Quadro 4.2.** Métodos de análise

<b>Parâmetro</b>	<b>Procedimento</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Norma</b>
Humidade	Uma porção de amostra é seca a $105\pm 5^{\circ}\text{C}$ até peso constante.	Estufa Memmert	EN 12880:2000
Teor em cinzas	0,5 a 5 g de amostra seca (triturada a 0,25 mm) levada à combustão a $550\pm 25^{\circ}\text{C}$ durante 2h. Pesagem realizada em balança analítica de precisão (Mettler H80, $d = 0,1$ mg). Compostos – 2 g de amostra triturada; Amostras de couro – 0,5 g de amostra triturada.	Mufla Carbolite ESF Balança analítica de precisão Mettler H80 ( $d = 0,1$ mg)	EN 12879:2000
pH Condutividade	5 g de amostra em 50 mL de água destilada (tipo II). Agitação contínua durante 2h e leitura com eléctrodo apropriado.	Eléctrodo Thermo Scientific ORION 4 Star	EN 12176:1998
Análise elementar	Realizada no analisador elementar de acordo com as instruções do respectivo manual.	Analisador elementar EA 1108-Elemental Analyser CHNS-O, Carlo Erba Instruments	-
Metais pesados	0,1 ou 0,5 g de amostra (triturada a 0,25 mm) diluída em água régia. Digestão por microondas e quantificação por ICP-AES.	Milestone - ETHOS 1	EN 13346:2000

### 4.3. Métodos de cálculo

Após o período de teste, os dados obtidos pelos sensores de pressão foram tratados e transformados em valores de consumo de oxigénio, de modo a determinar-se a biodegradabilidade das amostras.

A curva de COU foi calculada com base na variação da pressão ao longo do tempo, através da equação:

$$\text{COU} = \frac{-\Delta P \times V_{\text{gás}}}{10 \times R \times (273,15 + T) \times W \times \text{ST} \times \text{SV}} \quad \text{Equação 4.3.}$$

Onde, COU representa o consumo acumulado de oxigénio (mmol O<sub>2</sub>/kg SV) ao longo do tempo,  $\Delta P$  a variação de pressão (mbar ou hPa),  $V_{\text{gás}}$  o volume do gás (mL), R a constante dos gases ideais (8,314 L.kPa.K<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>), T a temperatura de ensaio (°C), W o peso da amostra (kg), ST os sólidos totais da amostra (kg ST/kg amostra) e SV os sólidos voláteis da amostra (kg SV/kg ST).

A percentagem de ST foi calculada tendo em conta a determinação da humidade do material e de acordo com a equação:

$$\text{ST} = \left( 1 - \frac{W_h - W_{105^\circ}}{W_h} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4.4.}$$

Onde,  $W_h$  representa o peso da amostra húmida (g),  $W_{105^\circ}$  o peso da amostra seca a 105°C (g) e a razão  $\frac{W_h - W_{105^\circ}}{W_h}$  representa a humidade determinada pelos métodos de análise acima descritos.

A percentagem de SV foi calculada tendo em conta a determinação do teor em cinzas, segundo a equação:

$$\text{SV} = \left( \frac{W_{105^\circ} - W_{550^\circ}}{W_{105^\circ}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4.5.}$$

Onde,  $W_{550^\circ}$  representa o teor em cinzas, isto é, o peso da amostra seca a 550°C (g).

O volume do gás foi calculado a partir da equação:

$$V_{\text{gás}} = V_{\text{frasco}} - \frac{W \times \text{ST} \times 10000}{\rho} - V_{\text{liq}} \quad \text{Equação 4.6.}$$

Onde,  $V_{\text{frasco}}$  é o volume total do frasco (mL),  $V_{\text{liq}}$  o volume total da solução de incubação (mL) e  $\rho$  a densidade da amostra (kg.m<sup>-3</sup>).

O cálculo da densidade da amostra foi feito com base na seguinte equação:

$$\rho = \frac{1}{\frac{W \times \text{ST} \times \text{SV}}{1550} + \frac{W \times \text{ST} \times (1 - \text{SV})}{2650}} \quad \text{Equação 4.7.}$$

Após o cálculo dos valores de COU, calculou-se a quantidade de O<sub>2</sub> consumida no teste (O<sub>c</sub>), a partir da equação:

$$O_c = COU_{\text{máx}} \times 32 \times W \times ST \times SV + (0,0076 \times V_{\text{líq}}) \quad \text{Equação 4.8.}$$

Onde, O<sub>c</sub> caracteriza a quantidade de O<sub>2</sub> consumida no teste (mg O<sub>2</sub>), COU<sub>máx</sub> o valor máximo de COU registado no ensaio (mmol O<sub>2</sub>/kg SV) e os valores 32 e 0,0076 são, respectivamente, a massa molecular do O<sub>2</sub> (mg/mmol) e a fracção de O<sub>2</sub> dissolvido na água nas condições do teste (mg/mL).

Para calcular a percentagem de biodegradação foi fundamental conhecer o consumo teórico de O<sub>2</sub> (ThOD) da amostra, tendo em consideração o peso molecular e a quantidade de amostra utilizada no teste. Para um composto C<sub>c</sub>H<sub>h</sub>N<sub>n</sub>S<sub>s</sub>O<sub>o</sub> com massa molecular (M<sub>r</sub>), a quantidade de oxigénio necessária para oxidar um composto ao seu produto final pode ser calculada pela equação:

$$\text{ThOD} = \frac{16(2c + 0.5(h - 3n) + 3s - o)}{M_r} \quad \text{Equação 4.9.}$$

Com base no consumo teórico de O<sub>2</sub> (ThOD) e na quantidade real de O<sub>2</sub> consumido no teste (O<sub>c</sub>) foi possível determinar a percentagem de biodegradação da amostra, através da equação seguinte:

$$\text{Biodegradação (\%)} = \frac{O_c}{\text{ThOD}} \times 100 \quad \text{Equação 4.10.}$$

#### 4.4. Ajuste dos modelos matemáticos

##### 4.4.1. Descrição dos modelos

Como já foi relatado anteriormente, a actividade microbiológica de compostos pode ser explicada pelo consumo de O<sub>2</sub> ou libertação de CO<sub>2</sub> (Veeken *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2006). Na metodologia utilizada nesta dissertação, a actividade microbiana está associada ao consumo de O<sub>2</sub>, cuja relação depende da queda de pressão que se verifica no reactor (Veeken *et al.*, 2003; Sadaka *et al.*, 2006).

O simétrico das curvas acumuladas de pressão obtidas nos ensaios apresenta comportamento idêntico às curvas de crescimento microbiano, sendo também possível distinguir entre as fases de latência (*lag phase*), exponencial e estacionária. Como já foi descrito na revisão bibliográfica, diversos modelos matemáticos têm sido propostos para descrever estas curvas.

Pela análise e revisão dos estudos elaborados por Zwietering *et al.* (1990) e Mason (2008) pode-se concluir que os modelos exponencial e de Gompertz são bem sucedidos para descrever o comportamento das curvas associadas ao crescimento microbiano.

Segundo Mason (2008), pela análise dos estudos de modelação da evolução das curvas de CO<sub>2</sub> no processo de compostagem, as funções exponencial simples e dupla não possibilitam a modelação da *lag phase*, contrariamente ao formalismo de Gompertz. O mesmo autor refere que os valores modelados de CO<sub>2</sub> são superiores aos experimentais no início do ensaio e inferiores no final do ensaio, sendo mais acentuada a diferença entre os valores observados e estimados no modelo exponencial simples. Comportamento semelhante apresenta o formalismo de Gompertz no início do ensaio,

apresentando resultados sobreestimados, todavia, no final do ensaio, os valores estimados são superiores aos valores observados.

Desta forma, os trabalhos e revisões efectuados por Zwietering *et al.* (1990) e Mason (2008), descritos anteriormente nesta dissertação, justificaram a aplicação dos modelos exponencial dupla e de Gompertz para o estudo do comportamento das curvas de pressão que permitem determinar a biodegradabilidade das amostras.

Assim, o modelo exponencial dupla utilizado nesta dissertação tem por base o modelo exponencial simples que representa uma cinética de primeira ordem, descrito pela equação:

$$P = P_{\text{máx}} (1 - \exp^{-k \times t}) \quad \text{Equação 4.11.}$$

Onde,  $P$  é a pressão no tempo  $t$  (hPa),  $P_{\text{máx}}$  é o valor máximo de pressão que se pode atingir (hPa),  $k$  é a constante de degradação ( $\text{d}^{-1}$ ) e  $t$  é o tempo (dias).

Uma vez que a reacção que ocorre nos reactores envolve interacções complexas entre o substrato e uma população microbiana mista, é proposto que o modelo seja explicado pela presença de dois substratos, que se degradam com velocidades diferentes, cada um seguindo uma cinética de primeira ordem. Posto isto, o modelo tem a seguinte forma:

$$P = P_r (1 - \exp^{-k_r \times t}) + P_s (1 - \exp^{-k_s \times t}) \quad \text{Equação 4.12.}$$

Onde,  $P_r$  e  $P_s$  representam, respectivamente, as pressões máximas associadas aos substratos rapidamente e lentamente biodegradáveis (hPa) e  $k_r$  e  $k_s$  são, respectivamente, as constantes de degradação das fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis ( $\text{dia}^{-1}$ ).

Relativamente ao formalismo de Gompertz, este pode ser apresentado pela seguinte equação:

$$P = A \exp[-\exp(B - C \times t)] \quad \text{Equação 4.13.}$$

Onde  $P$  é a pressão no tempo  $t$  (hPa),  $A$ ,  $B$  e  $C$  são parâmetros e  $t$  é o tempo (dias).

Zwietering *et al.* (1990) atribuíram um significado biológico aos parâmetros  $A$ ,  $B$  e  $C$ , de forma a facilitar a atribuição de valores iniciais. Pelo que nas seguintes equações estão descritas as transformações feitas pelos autores:

$$A = \ln \left( \frac{P}{P_0} \right) \quad \text{Equação 4.14.}$$

$$B = \frac{\mu_{\text{máx}} \times \exp(1) \times \lambda}{A + 1} \quad \text{Equação 4.15.}$$

$$C = \frac{\mu_{\text{máx}} \times \exp(1)}{A} \quad \text{Equação 4.16.}$$

Onde  $P$  e  $P_0$  são, respectivamente, a pressão máxima e a pressão inicial (hPa),  $\lambda$  a duração da *lag phase* (dias), definida pela intersecção no eixo dos  $xx$  da tangente no ponto de inflexão e  $\mu_{\text{máx}}$  a taxa específica máxima de crescimento (hPa.d<sup>-1</sup>), definida como a tangente no ponto de inflexão.

Como  $P_0$  é muito reduzido quando comparado com  $P$ , pode-se assumir que  $A$  é igual a  $P$ .

Assumindo o mesmo pressuposto que foi utilizado para o modelo exponencial dupla, de que existem dois substratos, que se degradam com velocidades diferentes, o modelo de Gompertz considera que a variação de pressão observada é explicada pelo somatório de duas populações. Este modelo considera que cada população é caracterizada pelos parâmetros  $A$ ,  $\lambda$  e  $\mu_{\text{máx}}$ , que degradam dois substratos, um rapidamente e um lentamente biodegradável. Assim, o modelo tem a seguinte forma:

$$P = A_r \exp \left[ - \exp \left( \frac{\mu_{\text{máx}_r} \times \exp(1) \times \lambda_r}{A_r + 1} - \left( \frac{\mu_{\text{máx}_r} \times \exp(1)}{A_r} \times t \right) \right) \right] +$$

$$+ A_s \exp \left[ - \exp \left( \frac{\mu_{\text{máx}_s} \times \exp(1) \times \lambda_s}{A_s + 1} - \left( \frac{\mu_{\text{máx}_s} \times \exp(1)}{A_s} \times t \right) \right) \right]$$

**Equação 4.17.**

$A_r$  e  $A_s$  representam, respectivamente, as pressões máximas das fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis (hPa),  $\mu_{\text{máx}_r}$  e  $\mu_{\text{máx}_s}$  são, respectivamente, as taxas máximas de pressão (hPa.d<sup>-1</sup>) das fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis e  $\lambda_r$  e  $\lambda_s$  correspondem, respectivamente, à duração da fase de latência (*lag phase*) das fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis (d<sup>-1</sup>).

#### 4.4.2. Estimação dos parâmetros

O conjunto de parâmetros associado a cada modelo foi estimado através do método dos mínimos quadrados, recorrendo-se ao algoritmo Quasi-Newton (Microsoft Excel, 2007). Este método minimiza a soma dos quadrados das diferenças entre os valores estimados e os valores observados (Brown e Rothery, 1993).

A diferença entre os valores estimados e os valores observados é denominado por resíduo e representa, na prática, a forma de estimar o erro associado ao modelo aplicado (Brown e Rothery, 1993).

A estimativa dos parâmetros a que corresponde a menor soma do quadrado dos resíduos (designada por função objectivo) representa a solução óptima. O processo é iterativo e considerou-se atingida a convergência quando a diferença entre estimativas sucessivas era inferior a  $1 \times 10^{-5}$ . Para procurar a solução óptima é necessário estimar os valores iniciais dos vários parâmetros que caracterizam cada modelo (Vanrolleghem *et al.*, 2003; Ferreira, 2006).

O facto do modelo ser não linear e representar o somatório de funções exponenciais dificulta o processo de convergência (Brown e Rothery, 1993).

#### 4.4.3. Comparação de soluções

De modo a averiguar qual dos modelos se ajusta com maior exactidão aos resultados observados, foram determinados alguns parâmetros estatísticos associados a cada amostra. Adicionalmente, foi feita uma análise de variância simples (ANOVA), descrita pela distribuição  $F$ -Snedecor, por forma a

determinar a probabilidade (*p-value*) de variância entre os resultados experimentais e os resultados estimados para cada modelo (Brown e Rothery, 1993; Motulsky e Christopoulos, 2003).

Desta forma, foram calculados a soma do quadrado dos resíduos (SQR), o erro padrão da estimativa ( $S_e$ ), o coeficiente de determinação (CD) e o critério de selecção do modelo (CSM) (Spiegel, 1978; Cutreta *et al.*, 1999; Oke e Akindahunsi, 2005).

A SQR é dada pela diferença entre os valores estimados e os valores experimentais, segundo a equação:

$$SQR = \sum_{i=1}^n (P_{est} - P_{obs})^2 \quad \text{Equação 4.18.}$$

O  $S_e$  representa uma medida de dispersão do modelo utilizado, sendo dado pela equação:

$$S_e = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (P_{est} - P_{obs})^2}{n}} \quad \text{Equação 4.19.}$$

O CD refere-se à proporção de variação total da variável dependente P que é explicada pela variação da variável independente t e é dado pela equação:

$$CD = \frac{\sum_{i=1}^n (P_{obs} - \overline{P_{obs}})^2 - \sum_{i=1}^n (P_{est} - P_{obs})^2}{\sum_{i=1}^n (P_{obs} - \overline{P_{obs}})^2} \quad \text{Equação 4.20.}$$

O CSM representa a variação média dos dados observados face aos dados estimados, tendo em conta o número de parâmetros estimados e o número de pontos experimentais e é calculado de acordo com a equação:

$$CSM = \ln \left( \frac{\sum_{i=1}^n (P_{obs} - \overline{P_{obs}})^2}{\sum_{i=1}^n (P_{est} - P_{obs})^2} \right) - \frac{2p}{n} \quad \text{Equação 4.21.}$$

Onde,  $P_{obs}$  representa os valores experimentais observados,  $P_{est}$  os valores estimados,  $\overline{P_{obs}}$  a média dos valores estimados, n o número de dados experimentais e p o número de parâmetros estimados.

De referir que valores mais baixos da SQR e  $S_e$  explicam melhores ajustamentos (Spiegel, 1978), contrariamente, pela análise do CD e do CSM, valores mais elevados indicam que o ajustamento é melhor e o modelo representa os valores experimentais com maior exactidão (Cutreta *et al.*, 1999; Oke e Akindahunsi, 2005).



# Capítulo 5

## Resultados e Discussão

### 5.1. Caracterização dos materiais de estudo

A caracterização dos materiais de estudo é de extrema importância para a compreensão do comportamento dos materiais no processo de biodegradação e, mais especificamente, nas condições dos ensaios efectuados nesta dissertação. Os resultados da caracterização dos materiais de estudo encontram-se descritos nos quadros seguintes (Quadro 5.1 a 5.3.).

Os resultados de caracterização dos materiais de estudo em termos de pH e condutividade encontram-se no quadro 5.1, assim como os valores de ST e SV, calculados a partir da determinação da humidade e do teor em cinzas, respectivamente.

**Quadro 5.1.** Resultados dos ST, SV, pH e condutividade dos materiais de estudo

<b>Amostra</b>	<b>ST (%)</b>	<b>SV (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Condutividade (<math>\mu</math>S/cm)</b>
11	90,36	99,48	4,50	750,0
15	90,67	99,17	3,30	412,0
20	88,30	99,52	3,84	353,0
21	84,35	99,90	3,70	222,6
22	86,15	99,65	3,90	307,0
23	92,79	99,78	3,93	327,0
24	85,75	99,72	3,29	354,0
25	84,39	99,89	3,50	218,9
26	97,46	99,58	3,82	84,2

<b>Amostra</b>	<b>ST (%)</b>	<b>SV (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Condutividade (<math>\mu\text{S/cm}</math>)</b>
27	92,96	99,46	3,71	108,8
PST	93,70	99,13	-	-
Amido	88,37	99,66	-	-
Celulose	88,16	99,73	-	-
Inóculo	69,92	44,53	-	-

Uma análise da caracterização dos materiais permite constatar que os valores de ST são na ordem dos 90%, o que indica que os materiais de estudo têm uma humidade de cerca de 10%. No caso do inóculo, verifica-se que a humidade é superior, tendo o valor de cerca de 30%.

Relativamente ao teor em matéria orgânica (SV), os materiais de estudo apresentam valores que rondam os 99%, pelo que se presume que os materiais têm potencial para se biodegradarem. O mesmo não se constata para o inóculo, cuja matéria orgânica representa cerca de 44%. Contudo, a estabilidade do inóculo justifica este valor, tendo o inóculo sido utilizado unicamente para disponibilizar microrganismos ao meio e não para fornecer carbono para a degradação dos materiais.

Os valores de pH e condutividade foram determinados para as amostras de couro, verificando-se que os valores de pH encontram-se numa gama ácida (pH = 3,3 a 4,5) e que os valores de condutividade apresentam maiores variações entre amostras, estando entre 750  $\mu\text{S/cm}$  e 84  $\mu\text{S/cm}$ .

Posteriormente, os materiais de estudo foram caracterizados em termos de análise elementar para determinar a sua composição em carbono (C), azoto (N), hidrogénio (H) e enxofre (S) e estimar a carência teórica de oxigénio (ThOD). Os resultados desta caracterização estão dispostos no quadro 5.2.

**Quadro 5.2.** Resultados da análise elementar dos materiais de estudo

<b>Amostra</b>	<b>N (% ps)</b>	<b>C (% ps)</b>	<b>H (% ps)</b>	<b>S (% ps)</b>	<b>ThOD (mg O<sub>2</sub>/g ps)</b>
11	12,06	47,39	7,54	-	1329
15	11,60	45,30	6,70	-	1181
20	12,33	49,95	6,88	1,22	1393
21	12,54	48,78	6,77	1,56	1347
22	12,82	50,19	7,15	0,94	1416
23	14,01	48,81	6,86	1,01	1332
24	12,00	49,39	6,73	1,47	1368

<b>Amostra</b>	<b>N (% ps)</b>	<b>C (% ps)</b>	<b>H (% ps)</b>	<b>S (% ps)</b>	<b>ThOD (mg O<sub>2</sub>/g ps)</b>
25	13,47	48,01	6,79	0,76	1294
26	12,30	50,83	6,97	-	1405
27	12,70	52,08	7,13	-	1460
PST	16,80	48,10	7,20	-	1292
Amido	1,50	43,00	6,90	-	1187
Celulose	-	45,90	7,10	-	1322

Os resultados proveniente da análise elementar revelam que a percentagem de carbono é de cerca de 50% para as amostras de couro, sendo na mesma ordem de grandeza para os materiais de referência. Também no caso do teor em azoto se pode constatar que, em média, os materiais de estudo (amostras de couro e materiais de referência) apresentam cerca de 12%, sendo este valor ligeiramente superior na PST. No caso da celulose não se detectou teor em azoto e, no caso do amido este valor é vestigial (1,5%).

No caso do teor em hidrogénio, este também é idêntico para todas os materiais, cerca de 7%. No que se refere ao teor em enxofre, é visível que na maioria dos materiais este não foi detectado, no entanto valores, embora vestigiais, foram determinados nas amostras 20 a 25.

Os valores do consumo teórico de oxigénio (ThOD) também comprovam que a composição elementar das amostras é semelhante, sendo possível averiguar que os resultados variam entre cerca de 1100 mg O<sub>2</sub>/g ps e 1500 mg O<sub>2</sub>/g ps. Sendo ainda visível que as amostras 22, 26 e 27 são as que apresentam valores de ThOD superiores (1400 mg O<sub>2</sub>/g ps) e que a amostra 15, assim como o amido são os materiais que apresentam valores de ThOD menores (1100 mg O<sub>2</sub>/g ps).

A avaliação da presença de metais pesados nos materiais de estudo é um parâmetro importante, devido ao efeito tóxico destes agentes e à sua influência nos resultados do método expedito. A caracterização das amostras relativamente à presença de metais encontra-se no quadro 5.3..

**Quadro 5.3.** Resultados dos metais presentes nos materiais de estudo

Amostra	Cr (mg/kg ps)	Cu (mg/kg ps)	Ni (mg/kg ps)	Mo (mg/kg ps)	Pb (mg/kg ps)	Zn (mg/kg ps)
11	28,52 ± 1,47	-	-	-	-	14,14 ± 1,57
15	18,01 ± 4,99	1,99 ± 1,99	-	5,74 ± 3,29	-	13,28 ± 4,04
20	11,52 ± 1,96	5,69 ± 0,23	7,71 ± 1,14	-	-	10,18 ± 0,85
21	22,63 ± 2,12	5,46 ± 0,97	17,28 ± 1,52	-	-	5,89 ± 3,55
22	11,83 ± 0,61	14,06 ± 0,62	12,19 ± 0,62	-	-	22,21 ± 5,34
23	6,44 ± 1,66	33,03 ± 8,36	5,21 ± ND	-	-	8,63 ± 2,13
24	8,07 ± 0,28	20,35 ± 4,66	3,57 ± 0,26	-	-	2,85 ± 0,34
25	21,75 ± 3,23	29,13 ± 11,06	9,89 ± 4,51	-	-	14,44 ± 6,90
26	21,02 ± 0,40	9,33 ± 0,49	6,28 ± 0,53	-	0,94 ± 0,01	9,82 ± 0,05
27	11,48 ± 0,84	9,33 ± 0,05	4,74 ± 0,44	-	0,94 ± 0,02	9,82 ± 0,53

\*Limites de detecção (mg/L): Cr = 3; Cu = 10; Ni = 3; Mo = 2; Pb = 0,5; Zn = 0,5

Os resultados da avaliação da presença de metais pesados nas amostras de couro revelam que as amostras 11, 15, 21, 25 e 26 apresentam uma quantidade de crómio (Cr) ligeiramente superior (cerca de 20 mg/kg ps) às quantidades presentes nas restantes amostras (aproximadamente 10 mg/kg ps). As amostras de couro produzidas pela ANC são, neste momento, isentas de crómio, no entanto os fulões utilizados no processo de fabrico das amostras podem apresentar ainda quantidades residuais de crómio, que são transferidas para as amostras durante o fabrico das mesmas.

Relativamente à quantidade de cobre (Cu) nas amostras verifica-se que esta é ligeiramente maior nas amostras 22 a 25 (entre 14 a 30 mg/kg ps), quando comparada com a quantidade média deste metal presente nas restantes amostras (6 mg/kg ps). No caso da amostra 11, não se detectou a presença deste metal.

Os valores de níquel (Ni), embora não tenham sido detectados nas amostras 11 e 15, estão presentes nas restantes amostras de couro, com variações entre 4 mg/kg ps e 18 mg/kg ps. Variações acentuadas verificam-se também nas quantidades de zinco (Zn) presente nas amostras, onde os valores se encontram entre 3 mg/kg ps e 22 mg/kg ps, sendo as amostras 21 e 24 as que apresentam menores quantidades deste metal e amostra 22 a que tem presente maior quantidade de zinco.

No que diz respeito à presença de molibdénio (Mo) e chumbo (Pb), estes metais só se encontram em determinadas amostras. No caso do molibdénio, uma quantidade vestigial (6 mg/kg ps) foi detectada na amostra 15. Quantidades mínimas de chumbo, na ordem dos 0,9 mg /kg ps, foram identificadas nas amostras 26 e 27.

## 5.2. Análise do comportamento do sistema

Como forma de avaliar o comportamento do sistema a variações de concentração de substrato, foram realizados ensaios com as amostras 15 e 26, onde se duplicou, para cada amostra, a quantidade de substrato a utilizar. No caso da amostra 15, foram utilizadas 1,0 g e 0,5 g e no caso da amostra 26 utilizou-se 0,2 g e 0,1 g.

De referir que as curvas de pressão apresentadas são os valores médios obtidos na repetição de vários ensaios e que os resultados obtidos para cada frasco, individualmente, se encontram expressos na secção de anexos (Anexo I – Figuras I.2, I.9 e I.10)

Tendo em conta a duplicação da quantidade e assumindo que não existem outras reacções a afectar o processo, o objectivo destes ensaios era verificar se o sistema conseguia ter sensibilidade na medição da queda de pressão. Comprovando se de facto a duplicação da quantidade de amostra correspondia a uma duplicação na queda de pressão.

Na figura 5.1. encontra-se representada a queda de pressão registada para a amostra 15, para as quantidades de 1,0 e 0,5 g.

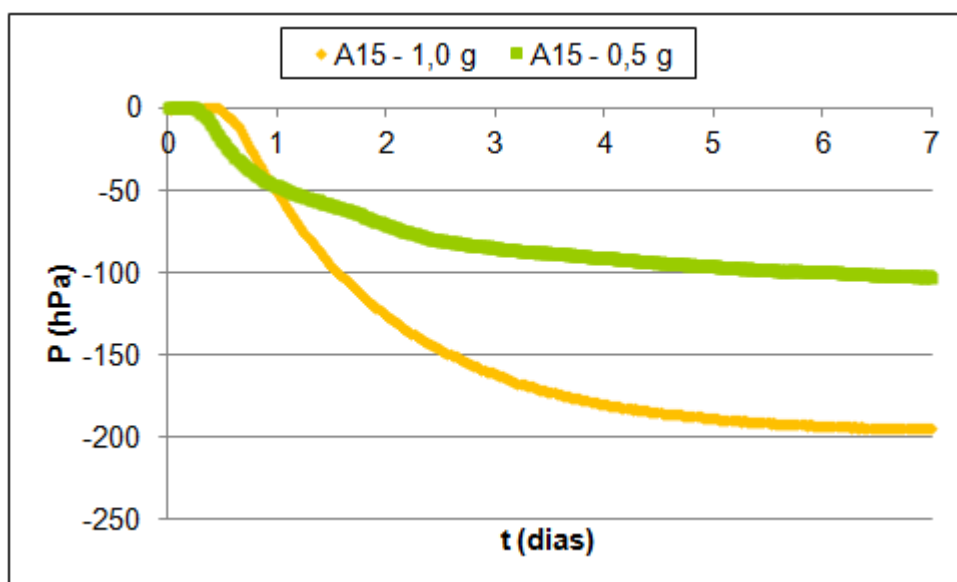


Figura 5.1. Queda de pressão da amostra 15 para diferentes concentrações

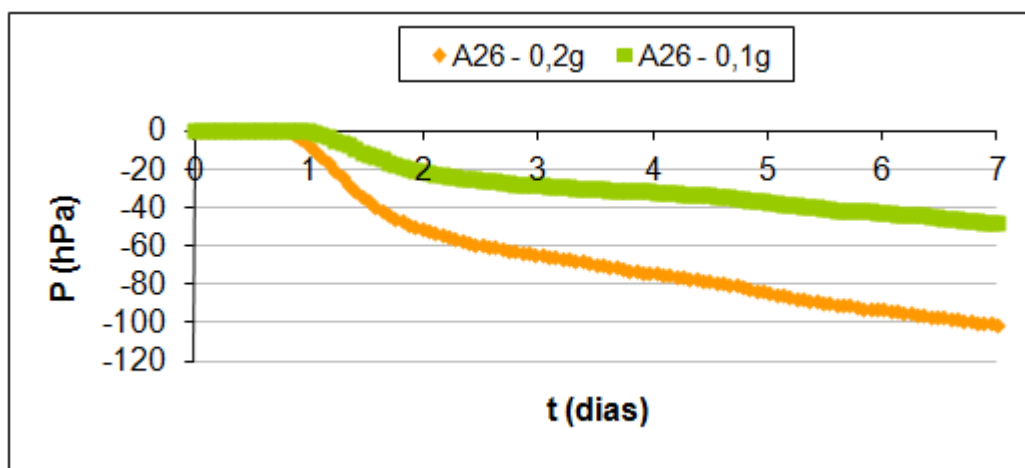
Pela análise da figura 5.1. pode-se verificar que os valores finais de pressão são duplicados (-100 hPa para 0,5 g e -200 hPa para 1,0 g). No entanto, é visível que o comportamento das curvas não descreve exactamente o que seria expectável, se for tido em conta que o consumo de oxigénio é a única reacção a influenciar o processo. Desta forma, as curvas deveriam demonstrar que, ao longo do tempo, os valores de pressão que representam a maior quantidade de amostra são sempre o dobro dos valores obtidos para a curva que representa a menor quantidade de amostra. Este comportamento não se verifica devido ao facto de o oxigénio se tornar limitante, no ensaio com maior quantidade (1,0 g) e, portanto, ter condicionado ligeiramente o andamento da curva.

Uma avaliação mais pormenorizada, demonstra que, a partir de 2 dias de ensaio, a curva de pressão da amostra 15 com maior quantidade (1,0 g) atinge valores de cerca de -130 hPa. Como for referido

anteriormente nesta dissertação, quando o sistema atinge valores de leitura na ordem dos -110 a -120 hPa, o oxigénio torna-se limitante e, conseqüentemente, o processo tem tendência a estagnar.

Desta forma, pode-se assumir que a determinação da biodegradabilidade primária da amostra deve ser feita recorrendo a ensaios com menores quantidades de amostra (igual ou inferior a 0,5 g), sendo ainda possível prever que com ensaios prolongados acima dos sete dias, uma quantidade de amostra de 0,5 g irá condicionar o funcionamento do sistema, por limitações de oxigénio no meio.

De seguida, a figura 5.2. demonstra o comportamento das curvas de pressão registadas para o ensaio com 0,2 g e 0,1 g de amostra 26.



**Figura 5.2.** Queda de pressão da amostra 26 para diferentes concentrações

A figura que representa a queda de pressão associada às duas quantidades da amostra 26 (Figura 5.2.) permite comprovar que a queda de pressão é directamente proporcional à quantidade de amostra utilizada no teste. Assim, não há evidências de que existam outras reacções a interferir no processo, além do consumo de oxigénio, pelo que se pode averiguar que a cinética da reacção é influenciada pela concentração de substrato. De facto, verifica-se que a curva que representa a quantidade de 0,1 g apresenta valores que são, ao longo do tempo, cerca de metade dos valores de pressão para a quantidade de 0,2 g.

Se forem contabilizados os valores finais de pressão, é possível ainda averiguar que para a quantidade de 0,1 g esses valores, cerca de -50 hPa, correspondem a metade dos valores de pressão registados, cerca de -100 hPa, para o dobro da quantidade (0,2 g).

Tal como referido para a amostra 15, os resultados de pressão para a amostra 26 demonstram que o prolongamento dos ensaios só será possível com 0,1 g de amostra, uma vez que a pressão alcançada aos sete dias, no ensaio com maior quantidade (0,2 g), já se encontra perto do limite de pressão recomendado (-110 hPa).

Os resultados obtidos nos ensaios realizados com variação da quantidade de amostra permitem atestar que, de facto, o sistema responde adequadamente a estas alterações. Desta forma, é possível prever, intuitivamente, os valores de pressão obtidos se fossem adicionadas outras quantidades de uma amostra cujo comportamento já é conhecido e caso não existam outras reacções envolvidas. Tendo como exemplo a amostra 26, pode-se deduzir que, caso se utilize uma quantidade superior como 0,5 g, os valores de pressão atingidos, no final do ensaio, seriam de cerca de -250 hPa.

No entanto, para a extrapolação desta informação, é necessário garantir que a pressão atingida durante o ensaio não limita o processo e, conseqüentemente, não traduz resultados duvidosos, como aconteceria no exemplo apresentado (ensaio com 0,5 g de A26).

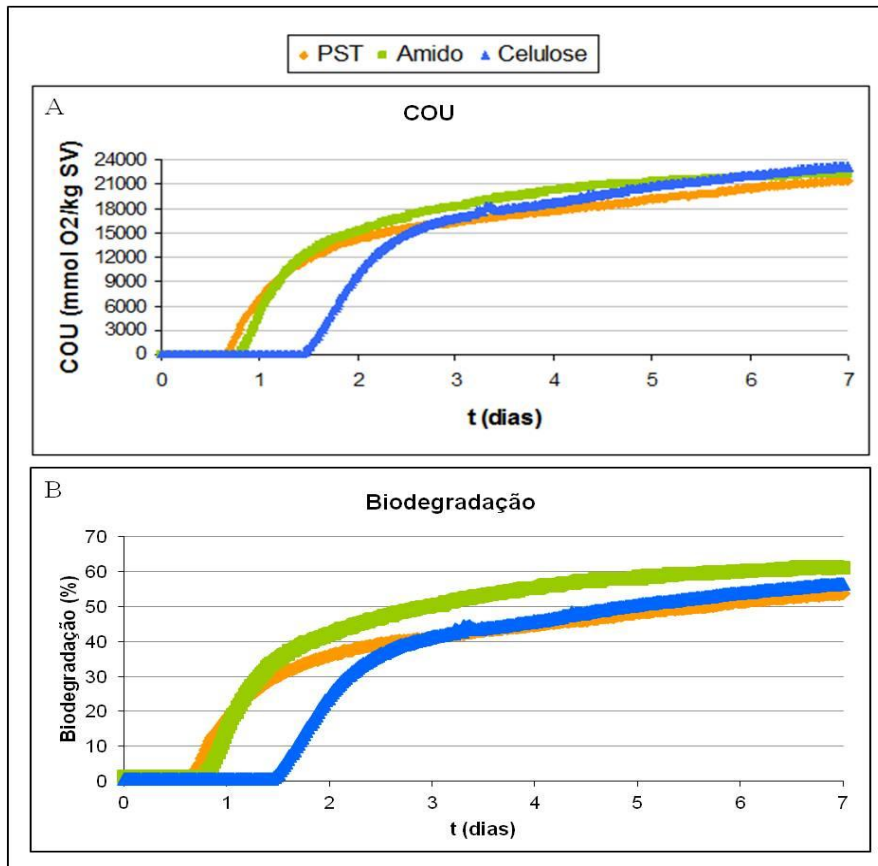
Estes ensaios possibilitam ainda a determinação da quantidade a ser utilizada caso os ensaios sejam prolongados, além dos sete dias, como por exemplo, para determinação da biodegradabilidade última dos materiais de couro. Considerando as curvas de pressão apresentadas para as amostras 15 e 26, pode-se constatar que para o prolongamento dos ensaios com a amostra 15 seria necessário reduzir a quantidade a utilizar (inferior a 0,5 g) e, no caso da amostra 26, teria de se optar pela realização dos ensaios com 0,1 g, contudo, sempre garantindo que a pressão alcançada não será inferior a cerca de - 110 hPa, assegurando assim a disponibilidade de O<sub>2</sub> no meio gasoso.

### **5.3. Definição do material de referência**

A avaliação do comportamento das curvas de consumo acumulado de oxigênio (COU) relativas aos materiais de referência é de extrema importância para a determinação do valor-limite de biodegradação das amostras de couro, expresso em função da biodegradabilidade do material de referência. Contudo, é importante definir o material de referência mais adequado para a avaliação da biodegradabilidade das amostras de couro. A justificação da escolha destes três materiais de referência (PST, amido e celulose) encontra-se descrita no capítulo anterior.

Os resultados de COU apresentados para os materiais de referência são os valores médios obtidos na repetição de vários ensaios. Os resultados obtidos para cada frasco encontram-se na secção de anexos (Anexo I – Figuras I.12 a I.14).

As curvas de COU e de biodegradação relativas aos materiais de referência estudados apresentam algumas diferenças, como se pode atestar pela figura 5.3.



**Figura 5.3.** Consumo de oxigénio (A) e biodegradação (B) dos materiais de referência

Pela análise da figura 5.3. verifica-se que a maior disparidade entre resultados dá-se no início do ensaio, nomeadamente, no que respeita ao tempo de adaptação dos microrganismos (*lag phase*). De facto, verifica-se que a duração da *lag phase* da celulose é bastante superior (cerca de 1,5 dias), quando comparada com a dos restantes materiais de referência (aproximadamente 0,8 dias). Lopes (2013) observou comportamento semelhante na celulose, quando efectuou ensaios de biodegradabilidade em condições de compostagem laboratorial, de acordo com a norma 14855:2005. No entanto, este autor relacionou este período mais alongado da *lag phase* à estabilidade estrutural deste material.

Todavia, no que concerne aos valores de COU (figura 5.3.A) atingidos no final do ensaio, é visível que estes estão próximos, com valores de grandeza de cerca de 22000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV, embora os valores da PST sejam mais reduzidos. Relativamente à biodegradação dos materiais de referência (figura 5.3.B), pode-se verificar que se encontra na ordem dos 55%, sendo o amido o material de referência mais biodegradável, com uma percentagem de biodegradação ligeiramente superior (60%).

Com base nestas evidências, é expectável que tanto os valores de COU como a percentagem de biodegradação das amostras de couro não atinjam valores superiores aos da PST (cerca de 21000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV e 53% de biodegradação), tendo em consideração que esta representa a matéria-prima das amostras. Pode-se ainda assumir que o nível máximo de biodegradação alcançado pelas amostras de couro está condicionado pelo da matéria-prima (PST), pelo que materiais de couro muito biodegradáveis terão uma biodegradabilidade muito semelhante à da PST, próximo de 55%, mas dificilmente superiores.



Os valores de biodegradação atingidos no fim do ensaio, encontram-se dispostos no quadro 5.4.

**Quadro 5.4.** Resultados da biodegradação dos materiais de referência

<b>Material de referência</b>	<b>W (g)</b>	<b>Lag phase (d)</b>	<b>ThOD (mg O<sub>2</sub>)</b>	<b>COU<sub>Max</sub> (mmol O<sub>2</sub>/kg SV)</b>	<b>O<sub>c</sub> (mg O<sub>2</sub>)</b>	<b>Bio (%)</b>	<b>Rep (%)</b>
PST	0,1	0,68	121,0	21424,6	65,2	53,9	18,7
Amido	0,1	0,82	104,9	22384,8	64,6	61,6	34,1
Celulose	0,2	1,45	233,0	23183,2	132,0	56,6	26,5

Os resultados de biodegradação demonstram que o amido é o material de referência mais biodegradável (62%), seguido da celulose (57%), sendo a PST a menos biodegradável (54%). Analisando a duração da *lag phase*, pode-se ainda afirmar que a celulose apresenta valores (1,45 dias), substancialmente, diferentes dos restantes materiais de estudo, que variam entre 0,68 para a PST e 0,82 para o amido. Este facto demonstra que os microrganismos levam mais tempo a iniciar a degradação da celulose, como seria de esperar, tendo em conta a sua estrutura química mais complexa.

Tendo em atenção a reprodutibilidade dos resultados, verifica-se que os ensaios com a PST apresentam uma variabilidade entre resultados aceitável (19%). No entanto, os ensaios com os restantes materiais de referência demonstram maior variabilidade entre resultados, 27% e 34%, respectivamente para a celulose e para o amido.

Perante os resultados, é possível aferir que a utilização da PST ou do amido, como material de referência, é mais adequada do que a utilização da celulose, conforme sugerem as normas de avaliação da biodegradabilidade de materiais poliméricos (ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 e ISO 14855-1:2005). Por este motivo, a celulose foi descartada como material de referência a ser utilizado na avaliação da biodegradabilidade dos materiais de couro.

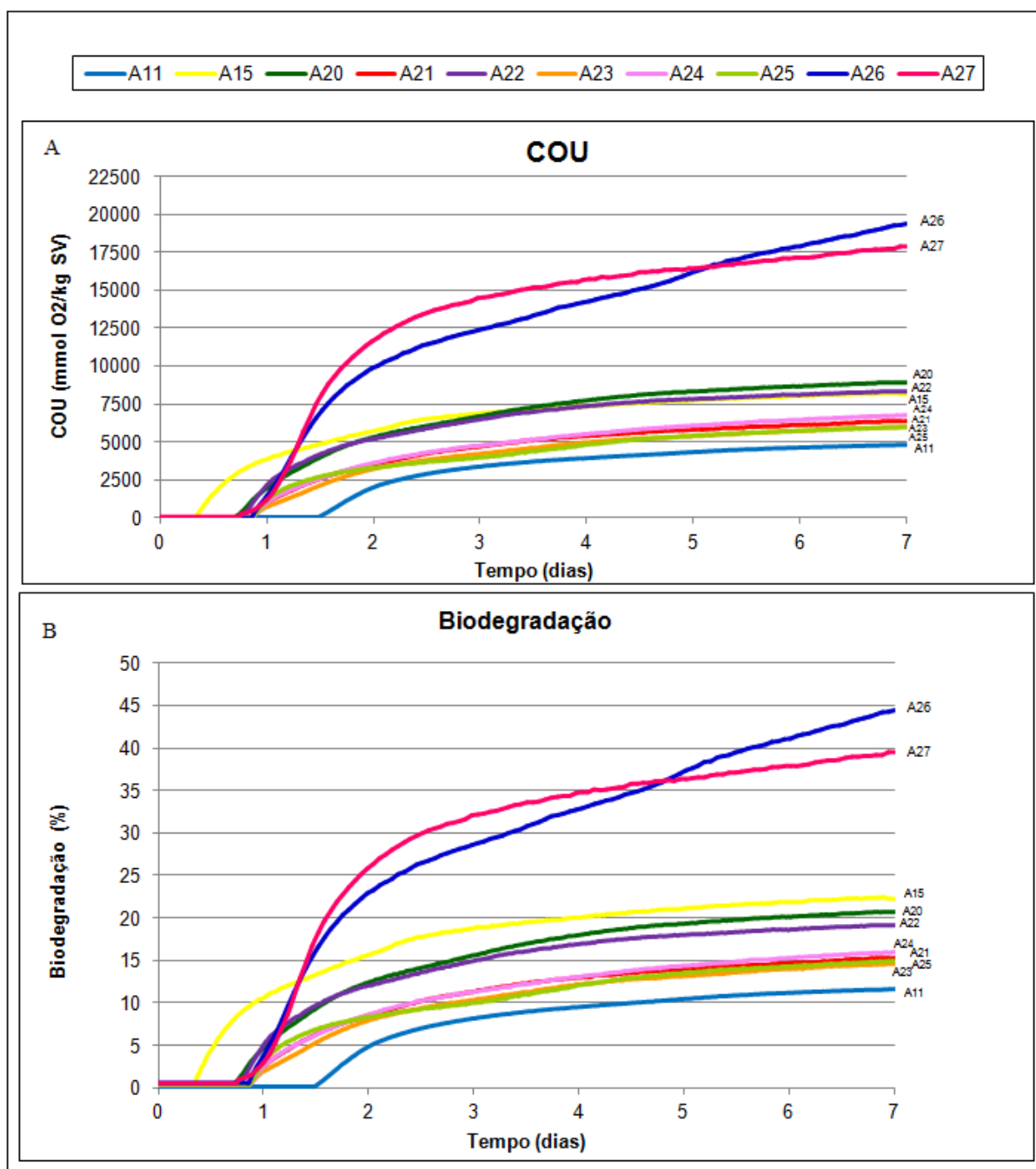
Lopes (2013) avaliou também a adequabilidade do material de referência a utilizar na validação dos testes de biodegradabilidade de materiais de couro, tendo estudado o comportamento do amido e da celulose em condições de compostagem laboratorial. O mesmo autor verificou que, em oito dias, o amido atingia valores de biodegradação de 55%, não muito distante dos valores obtidos nesta dissertação (61,6%). Contudo, para o mesmo tempo de ensaio, Lopes (2013) estimou em cerca de 36% a biodegradabilidade da celulose, cujo valor é relativamente diferente do alcançado nos ensaios efectuados nesta dissertação (56,6%).

#### **5.4. Avaliação da biodegradabilidade do couro**

Os resultados relativos ao COU e à biodegradação das amostras de couro (A11, A15 e A20 a A27) encontram-se expressos, graficamente, na figura 5.4. Os resultados de COU são os valores médios de várias repetições, encontrando-se em anexo (Anexo I – Figuras I.1 a I.11) os resultados obtidos para cada frasco.

As curvas de consumo de oxigénio obtidas através do método expedito apresentam um comportamento idêntico às curvas de crescimento microbiano, onde se pode atestar a existência de três fases: *lag phase*, fase exponencial e fase estacionária. Em alguns casos (amostras 25 e 26), embora não

tão evidente, é visível o aparecimento de uma *lag phase* intermédia, que pode ser justificado por alterações nas condições do meio ou de mudança de substrato (Santos Oliveira, 1982; Swinnen *et al.*, 2004).



**Figura 5.4.** Consumo de oxigénio (A) e biodegradação (B) das amostras de couro

É possível constatar, pela figura 5.4.A, que a amostra 26 é a que apresenta valores de COU maiores e que a amostra 11 é a que apresenta valores de COU menores, na fase final do ensaio (sete dias). É possível ainda identificar uma discrepância acentuada de valores das amostras 26 e 27 (cerca de 19000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV) para as restantes amostras (cerca de 5000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV). Comportamento semelhante têm as curvas que expressam a evolução da biodegradação das amostras (Figura 5.4.B),

onde se verifica que as amostras 26 e 27 atingem uma percentagem de biodegradação (40 a 45%) bastante superior à das outras amostras, cuja média é de 15%.

Pode-se ainda comprovar que tanto os valores obtidos de COU como a percentagem de biodegradação demonstram que algumas amostras têm comportamento semelhante, sendo provável que o processo de fabrico destas amostras não tenha sofrido alterações que prejudicam a biodegradabilidade das amostras de um modo acentuado. Esta relação entre amostras é mais notável para as amostras 15-20-22, amostras 21-23-24-25 e amostras 26-27.

Analisando mais pormenorizadamente o comportamento de cada amostra e a descrição das alterações efectuadas no fabrico das mesmas (Quadro 4.1.), pode-se constatar que a amostra 15 apresenta valores de COU bastante superiores aos da amostra 11. Esta diferença, cerca de 3500 mmol O<sub>2</sub>/kg SV está também evidenciada pela maior biodegradabilidade da amostra 15 (20%) face à biodegradabilidade da amostra 11 (12%), o que significa que a substituição do agente de recurtume da amostra 11 teve uma influência positiva sobre a biodegradabilidade.

Avaliando o comportamento das amostras 20 e 22, pode-se verificar que os valores máximos de COU destas amostras são idênticos ao valor atingido pela amostra 15, cerca de 8500 mmol O<sub>2</sub>/kg SV, embora a duração da *lag phase* nos ensaios com estas amostras ( 20 e 22) tenha sido mais longa (cerca de 0,8 dias) do que no ensaio com a amostra 15, cuja duração foi perto de 0,3 dias.

Pela análise da figura 5.4. é também evidente que as curvas de COU das amostras 20 e 22 são semelhantes, o que seria de esperar tendo em conta que o processamento das amostras é idêntico. Contudo, considerando a curva de biodegradação é visível que a amostra 22 apresenta uma percentagem de biodegradação ligeiramente inferior, o que não seria expectável tendo em conta que esta amostra apresenta mais uma operação de lavagem do que a amostra 20, para redução do teor de formaldeído.

Relacionando estas evidências com a caracterização das amostras, em termos de metais (Quadro 5.3.), comprova-se que a amostra 22 apresenta valores de metais, nomeadamente cobre e zinco, superiores aos da amostra 20, que podem ter prejudicado a degradação microbiana. No entanto, seria também importante contabilizar a diferença entre as concentrações de formaldeído das diferentes amostras, de modo a verificar se esta redução de concentração favorece, acentuadamente, o crescimento microbiano.

Tendo em conta as modificações, no acabamento ,efectuadas sobre a amostra 20 e que deram origem às amostras 21 e 25, pode-se atestar que as mesmas parecem ter influenciado negativamente a biodegradabilidade das amostras.

Os resultados experimentais referentes às amostras 21 e 25 (Figura 5.4.) demonstram uma similaridade entre as curvas de COU e de biodegradação, mas quando comparadas com a amostra de base (A20), é visível um decréscimo no COU e na percentagem de biodegradação atingida. Enquanto que a amostra 20 apresenta valores de cerca de 9000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV, estas amostras apresentam valores de cerca de 6000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV, sendo que a biodegradabilidade das amostras 21 e 25 é cerca de 15%, uma redução de 5% no potencial de biodegradação para a amostra de base (A20).

A disparidade entre os valores da amostra 21 para a amostra 20 não é perceptível, visto que a amostra 21 difere da base (A20) apenas pela ausência de tingimento. No entanto, os resultados da presença de metais (Quadro 5.3.) demonstram que os valores de crómio e níquel da amostra 21 são superiores aos

da amostra 20, considerando-se assim a possibilidade de ter havido inibição do crescimento microbiano pela presença destes metais.

No caso da amostra 25, o acabamento com recurso a resinas e pigmentos metálicos, que a diferença da amostra 20, especula-se que seja o responsável por esta redução na actividade microbiana (Comunicação pessoal da Eng.<sup>a</sup> Teresa Salgueiro, 3 de Outubro de 2013).

Os resultados referentes às amostras 26 e 27, comprovam que as modificações efectuadas no acabamento destas amostras favoreceu, acentuadamente, a biodegradabilidade das mesmas. As amostras 26 e 27 apresentam, entre si, valores de COU da mesma ordem de grandeza (cerca de 19000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV) e bastante superiores aos da amostra 20 (9000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV). Em relação à biodegradabilidade das amostras o comportamento é idêntico, verificando-se que a amostra 26 é mais biodegradável que a amostra 27, 45% e 40% de biodegradação, respectivamente. Perante os resultados, pode-se deduzir que o acerto da coloração rosa efectuado à amostra 26 não prejudicou a actividade microbiana. Comparando ainda estes valores com os valores de biodegradação da amostra de base (A20), que atingiu um valor de cerca de 20%, é possível demonstrar que os acabamentos encerados duplicaram a biodegradabilidade destas amostras.

Este facto, está de acordo com o descrito por Orlita (2004), que refere que o acabamento com cera melhora o processo de biodegradação, na medida em que disponibiliza nutrientes aos microrganismos. No entanto, na presente dissertação não se verificaram alterações significativas na quantidade de azoto (Quadro 5.2.) presente nas amostras enceradas (amostras 26 e 27). Desta forma, esta evidência parece indicar que este tipo de acabamento apenas disponibiliza maior quantidade de material biodegradável, como se pode comprovar pela maior percentagem de carbono presente nestas amostras (Quadro 5.2.). Também um estudo elaborado pelo National Research and Development Institute for Industrial Ecology (INCD ECOIND, 2013) refere que as ceras utilizadas no acabamento de couro são biodegradáveis, razão pela qual se pode deduzir que o acabamento encerado não afecta negativamente a biodegradabilidade das amostras de couro.

Relativamente às amostras 23 e 24, a figura 5.4. permite constatar que existe uma ligeira diferença nas curvas de COU e de biodegradação. A amostra 24 apresenta valores de COU superiores à amostra 23, verificando-se uma diferença de cerca de 1000 mmol O<sub>2</sub>/kg SV no COU no final do ensaio. Avaliando a biodegradabilidade das amostras 23 e 24 é notável uma ligeira diferença, de 14% para 16% respectivamente, o que parece indicar que o tingimento *beige* utilizado na amostra 24 não afectou o COU e, conseqüentemente, a percentagem de biodegradação.

Comparando as amostras de solas (amostras 23 e 24) com as restantes, que têm por base a amostra 20, verifica-se que, de um modo geral, a percentagem de biodegradação destas amostras é inferior. Por esta razão, pode-se admitir que o recurtume recorrendo a estes agentes, prejudica a biodegradação das amostras. Tendo em conta que os taninos vegetais são constituídos por fenóis de elevado peso molecular e, portanto, com uma estrutura química mais estável, era esperado que esta combinação de taninos afectasse, negativamente, o processo de degradação (Haslam, 1989; Gonçalves, 2007).

O quadro 5.5., apresentado de seguida, sintetiza a informação resultante dos ensaios elaborados para avaliação da biodegradabilidade primária das amostras de couro. Estes resultados não foram ajustados, pelo que os valores finais, aos sete dias, contabilizam o tempo de adaptação dos microrganismos (*lag phase*). Os valores de biodegradação estimados para os sete dias, isto é, excluindo a duração da *lag phase*, serão apresentando mais adiante neste capítulo.

**Quadro 5.5.** Resultados da biodegradação das amostras de couro

Amostra	W (g)	Lag phase (d)	ThOD (mg O <sub>2</sub> )	COU <sub>Max</sub> (mmol O <sub>2</sub> /kg SV)	O <sub>c</sub> (mg O <sub>2</sub> )	Bio (%)	Rep (%)
11	1,0	1,05	1200,9	4870,5	141,7	11,8	9,9
15	0,5	0,33	535,6	8258,2	120,4	22,5	15,0
20	0,5	0,72	615,1	8923,1	127,0	20,6	19,9
21	0,5	0,88	568,2	6338,8	87,0	15,3	16,7
22	0,5	0,78	609,8	8362,4	116,4	19,1	12,4
23	0,5	0,88	618,1	5959,1	89,8	14,5	18,9
24	0,5	0,88	586,4	6733,8	93,7	16,0	19,4
25	0,5	0,88	546,1	5948,1	81,8	15,0	11,9
26	0,2	0,88	273,8	19356,1	121,8	44,5	15,1
27	0,2	0,76	271,4	17903,6	107,5	39,6	7,7

Como se pode confirmar pela análise do quadro 5.5., a biodegradação das amostras de couro, no fim dos ensaios de sete dias, varia entre 11,8% e 44,5 %, sendo a amostra 11 a menos biodegradável e a amostra 26 a mais biodegradável. Do conjunto de amostras estudadas, verifica-se que a biodegradabilidade é menor para a amostra 11, seguida das amostras 23, 25, 21, 24, 20 e 15, sendo as amostras 26 e 27 as mais biodegradáveis.

Encontra-se também patente a diferença existente na duração da *lag phase* das diferentes amostras, onde se verifica que a amostra 11 apresenta uma *lag phase* mais longa (1,05 dias) do que as restantes amostras. Contrariamente, a duração da *lag phase* da amostra 15 é menor (0,33 dias) do que a das restantes amostras. Para as restantes amostras de couro, a duração da *lag phase* é semelhante, oscilando entre 0,72 dias e 0,88 dias.

Tendo em conta as diferenças no fabrico das amostras, verifica-se que os corantes metálicos utilizados no tingimento das amostras reduzem a biodegradabilidade, caso da amostra 25. A mesma evidência é constatada para a alteração dos agentes de recurtume, cuja combinação de taninos sintéticos com taninos vegetais, prejudica o processo de biodegradação (amostras 23 e 24). Contrariamente, é visível o favorecimento do processo quando as amostras de couro têm acabamentos encerados (amostras 26 e 27).

Quanto à reprodutibilidade dos resultados, é notável que esta exprime variabilidades entre 8% e 20%, sendo que os ensaios com as amostras 11, 22, 25 e 27 apresentam menor variabilidade entre resultados (cerca de 10%). Os ensaios com a amostra 20 são os que demonstram maior variabilidade (20%) e a variabilidade dos resultados das restantes amostras é de cerca de 15%. Tendo em conta que os resultados são provenientes de um teste biológico, estes valores de reprodutibilidade podem ser considerados aceitáveis.

A necessidade de se prever a biodegradabilidade primária (em sete dias) e, se possível, a biodegradabilidade última das amostras de couro, justificou a aplicação dos modelos matemáticos exponencial dupla e de Gompertz. Os resultados experimentais de pressão, expressos pela curva média dos vários ensaios, foram ajustados por modelação, de modo a se eliminar a *lag phase* e se estimar a biodegradabilidade efectivamente alcançada num período de sete dias.

A justificação para a escolha do modelo exponencial dupla e de Gompertz teve por base os estudos elaborados por Zwietering *et al.* (1990) e Mason (2008). Numa primeira fase de exploração do modelo, o ajuste dos dois modelos foi efectuado considerando a degradação de um único substrato, no entanto a precisão de ajuste dos modelos era fraca.

Para além disso, a necessidade de distinguir entre as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis conduziram à exploração dos modelos exponencial dupla e de Gompertz, assumindo como pressuposto que existem dois substratos, que se degradam com velocidades diferentes.

No caso do modelo dupla exponencial, o intervalo temporal que representa a *lag phase* foi eliminado, uma vez que este modelo não considera o tempo de adaptação da população microbiana. No ajuste com o modelo de Gompertz, o tempo de adaptação da população microbiana foi mantido, visto que este modelo descreve curvas sigmoidais que permitem o ajustamento dos dados experimentais considerando a *lag phase*.

Os resultados do ajuste dos dois modelos aos dados de pressão são apresentados de seguida (Quadros 5.6 e 5.7, Figuras 5.5 a 5.10.), quer para os materiais de referência (PST e amido), quer para as amostras de couro (A11, A15, A20 a A27). A modelação dos resultados de pressão obtidos em cada frasco, encontram-se na secção de anexos (Anexo II – Figuras II.1 a II.27), assim como os parâmetros cinéticos estimados para cada modelo (Anexo II - Quadros II.1 a II.24).

No quadro 5.6 estão expostos os parâmetros cinéticos para o modelo exponencial, assim como a pressão máxima estimada.

**Quadro 5.6.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial

<b>Amostra</b>	<b><math>k_r</math> (<math>d^{-1}</math>)</b>	<b><math>P_r</math> (hPa)</b>	<b><math>k_s</math> (<math>d^{-1}</math>)</b>	<b><math>P_s</math> (hPa)</b>	<b><math>P_{máx}</math> (hPa)</b>	<b><math>P_r</math> (%)</b>	<b><math>P_s</math> (%)</b>
11	1,54	62,96	0,23	71,99	135,0	46,7	53,3
15	4,25	23,89	0,52	79,94	103,8	23,0	77,0
20	1,52	42,59	0,33	73,41	116,0	36,7	63,3
21	2,18	23,23	0,38	53,87	77,1	30,1	69,9
22	2,69	37,76	0,36	67,24	105,0	36,0	64,0
23	1,31	33,00	0,25	52,61	85,6	38,5	61,5
24	2,42	23,27	0,32	62,80	86,1	27,1	72,9
25	4,79	22,25	0,23	60,76	83,0	26,8	73,2
26	1,79	35,27	0,16	104,73	140,0	25,2	74,8
27	1,04	62,70	0,09	65,92	128,6	48,8	51,2
PST	2,11	30,55	0,12	43,45	74,0	41,3	58,7
Amido	2,55	23,35	0,43	29,78	53,1	43,9	56,1

O modelo exponencial demonstra uma tendência na distribuição das fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis. De facto, constata-se que tanto as amostras de couro como os materiais de referência, têm uma maior percentagem de fracção considerada dificilmente biodegradável.

Esta percentagem é bastante significativa no caso das amostras 15, 21, 24, 25 e 26. Exceptuando a amostra 21, estas amostras foram sujeitas a acabamentos ou, no caso da amostra 15, níveis de formaldeído que prejudicam o processo de biodegradação e, conseqüentemente, afectam a velocidade de degradação do material e tendem a ser parte integrante de um substrato que é mais difícil de degradar.

Relativamente às restantes amostras de couro, as fracções distribuem-se de um modo relativamente equitativo, em particular no caso das amostras 11 e 27, verificando-se o mesmo para o amido. De realçar ainda a similaridade existente na distribuição entre as fracções no caso da amostra 27 e da PST, cuja percentagem de fracção rapidamente biodegradável é, respectivamente, 48% e 41%. Estes valores comprovam, mais uma vez, que apesar do processo de curtimento, a amostra 27 apresenta um comportamento face ao processo de biodegradação próximo da sua matéria-prima (PST).

No quadro 5.7 estão expostos os parâmetros cinéticos para o modelo exponencial, assim como a pressão máxima estimada.

**Quadro 5.7.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz

Amostra	$\lambda_r$ (d)	$k_r^a$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$\lambda_s$ (d)	$k_s^a$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)	$P_{m\acute{a}x}$ (hPa)	$P_r$ (%)	$P_s$ (%)
11	1,08	2,94	72,02	1,54	0,45	57,98	130,0	55,4	44,6
15	0,28	3,27	55,29	0,80	0,74	47,71	103,0	53,7	46,3
20	0,70	2,74	52,10	0,84	0,58	58,90	111,0	46,9	53,1
21	0,81	2,96	35,09	1,17	0,68	37,91	73,0	48,1	51,9
22	0,76	3,78	47,25	0,72	0,59	54,75	102,0	46,3	53,7
23	0,85	2,47	40,11	1,38	0,56	38,39	78,5	51,1	48,9
24	0,80	2,62	39,83	1,28	0,53	43,17	83,0	48,0	52,0
25	0,85	5,56	28,94	1,18	0,55	44,06	73,0	39,6	60,4
26	0,84	2,15	58,30	2,31	0,36	71,70	130,0	44,8	55,2
27	0,70	1,66	76,25	4,45	0,26	53,75	130,0	58,7	41,3
PST	0,60	2,72	33,81	1,15	0,25	38,19	72,0	47,0	53,0
Amido	0,82	4,83	29,69	1,09	0,84	23,16	52,9	56,2	43,8

De acordo com os dados representados no quadro 5.7., o modelo de Gompertz evidencia, para todas as amostras de couro e para os materiais de referência, uma distribuição relativamente uniforme entre as duas fracções consideradas. Assim, neste caso não se consegue afirmar com exactidão se os acabamentos ou as modificações no processo de recurtume contribuem para a fracção dificilmente biodegradável. Apesar disso, verifica-se que em algumas amostras com acabamento (25 e 26) a

<sup>a</sup> Os valores de  $k$  têm o mesmo significado biológico do parâmetro  $C$ , descrito no modelo.

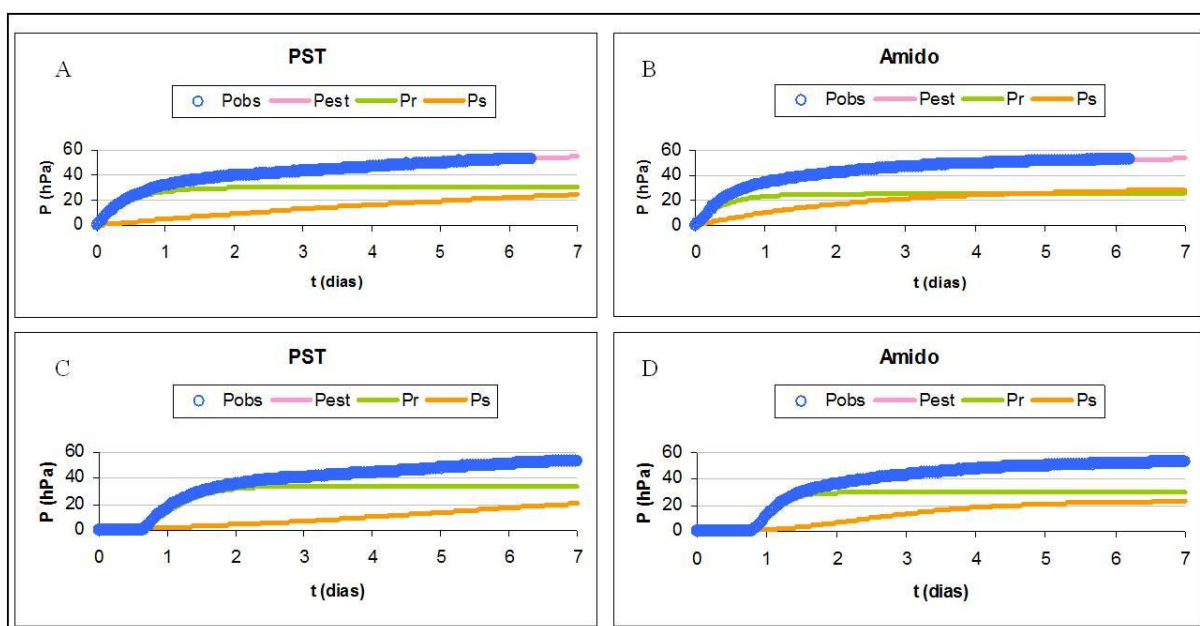
fracção dificilmente biodegradável é ligeiramente superior, representando cerca de 60% e 55% da pressão máxima estimada, respectivamente..

Pela análise dos quadros 5.6. e 5.7. pode-se ainda constatar que as constantes de degradação são maiores quando calculadas pelo modelo de Gompertz. Reuschenbach *et al.* (2003) aplicando os modelos de primeira ordem e logística, para análise da biodegradabilidade de compostos orgânicos em testes respirométricos, também verificaram que as constantes cinéticas eram inferiores para os modelos de primeira ordem. Desta forma, pode-se presumir que as constantes cinéticas determinadas por modelos que considerem a *lag phase* são superiores às encontradas por modelos de primeira ordem.

Relativamente à distinção entre as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis, constata-se que a percentagem representada pela fracção dificilmente biodegradável é superior no caso do modelo exponencial (Quadro 5.6.). O modelo exponencial permite ainda estimar valores de pressão máxima superiores aos estimados pelo modelo de Gompertz, pelo que é expectável que os valores de biodegradação tenham o mesmo comportamento. No entanto, a avaliação da biodegradabilidade estimada para sete dias, será descrita mais adiante (Quadro 5.9.).

A análise dos resultados de modelação será feita através da comparação entre os dois modelos. Adicionalmente, será também avaliada o comportamentos das curvas de pressão modeladas, tendo em conta grupos de amostras de couro que apresentavam comportamento análogo (A20-A22 e A26-A27) nas curvas experimentais de COU ou cujas alterações no processo de fabrico (A11-A15, A21-A25, A23-A24), fossem identificadas na distinção entre as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis.

A modelação dos resultados experimentais de pressão para os materiais de referência (PST e amido) encontra-se na Figura 5.5.



**Figura 5.5.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos materiais de referência (PST e Amido)



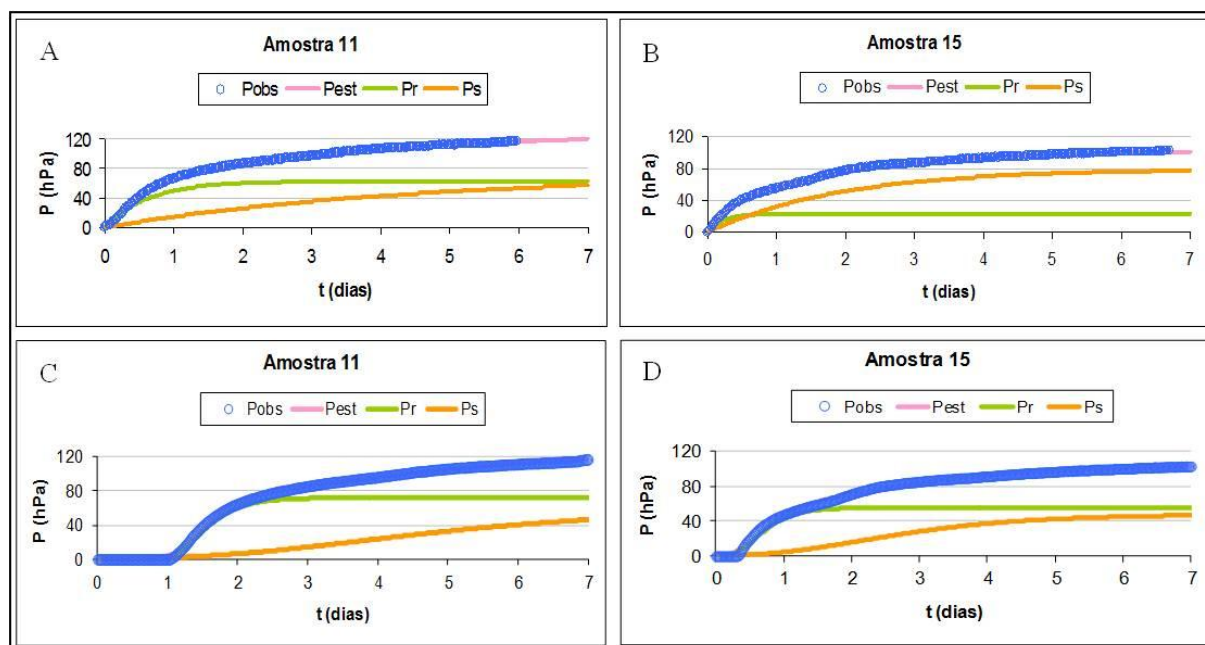
As curvas modeladas dos resultados referentes aos materiais de referência (Figura 5.5) comprovam que existe uma similaridade entre a PST e o amido, nomeadamente, no que diz respeito ao comportamento da fracção rapidamente biodegradável, contudo esta fracção é inferior à fracção lentamente biodegradável, exceptuando-se quando o ajuste dos resultados do amido é feito pelo modelo de Gompertz. Neste caso, a fracção rapidamente biodegradável é superior (56%) à fracção lentamente biodegradável, que representa cerca de 44%.

Relativamente à fracção lentamente biodegradável, verifica-se uma diferença, nomeadamente, quando comparando os resultados pelo modelo exponencial (Figura 5.5.A e B). De facto, as velocidades de degradação da fracção dificilmente biodegradável ( $k_s$ ) neste modelo diferem substancialmente, sendo de  $0,12 \text{ d}^{-1}$  para a PST e  $0,43 \text{ d}^{-1}$  para o amido (Quadros 5.6 e 5.7). Embora visualmente esta diferença não seja tão notável no ajuste com o modelo de Gompertz (Figura 5.5.C e D), as constantes de degradação ( $k_s$ ) também variam entre  $0,25 \text{ d}^{-1}$  e  $0,84 \text{ d}^{-1}$  (Quadros 5.6 e 5.7), respectivamente para a PST e para o amido.

A comparação entre modelos (Figura 5.5. B e D) permite também averiguar que o comportamento das curvas do amido é diferente consoante o modelo ajustado, nomeadamente, no que respeita à fracção dificilmente biodegradável. No entanto, a PST não apresenta diferenças acentuadas entre modelos, na distinção entre fracções (Figura 5.5.A e C).

Pode-se verificar ainda que tanto a fracção rapidamente biodegradável, como as constantes cinéticas ( $k_r$  e  $k_s$ ) são superiores, em ambos os modelos, para o amido (Quadros 5.6. e 5.7.), o que indicia que este material será mais rapidamente biodegradável que a PST.

O ajuste dos modelos exponencial e de Gompertz aos dados de pressão obtidos para as amostras 11 e 15 apresentam-se na figura 5.6.



**Figura 5.6.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 11 e 15

Na figura 5.6. é possível verificar que ambos os modelos têm um bom ajuste visual aos dados experimentais. Contudo, está também patente a diferença entre os modelos para a amostra 15 (Figura 5.6.B e D), nomeadamente na distinção entre as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis.

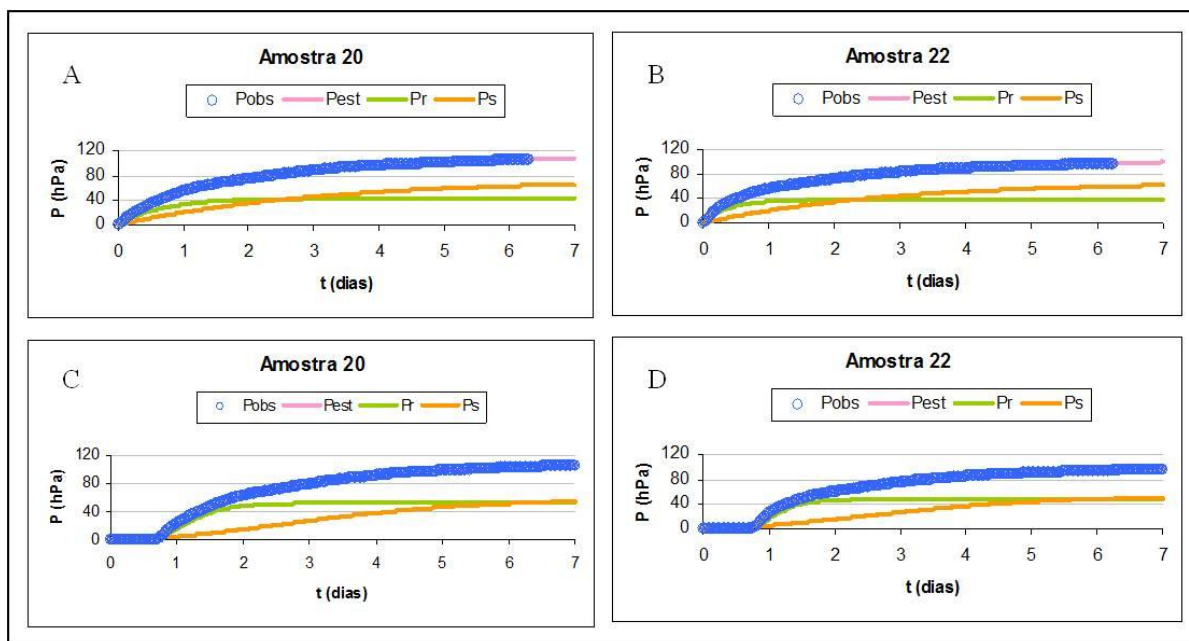
De facto, a percentagem de substrato facilmente biodegradável é superior no modelo de Gompertz (Figura 5.5.D), cerca de 54% (Quadro 5.7.). Embora a diferença não seja tão acentuada, constata-se esta mesma evidência também para a amostra 11 (Figura 5.5.C), cuja percentagem desta fracção corresponde a 55%.

De um modo geral, pode-se afirmar que, no caso da amostra 15, a percentagem de substrato dificilmente biodegradável é elevada. No caso do modelo exponencial esta percentagem é maior (77%) do que no modelo de Gompertz, cujo valor é de 46% (Quadros 5.6. e 5.7.), podendo a mesma estar relacionada com os elevados níveis de formaldeído presentes na amostra.

Relativamente à amostra 11, é visível que, em ambos os modelos, a fracção facilmente biodegradável é mineralizada ao fim de cerca de um dia e meio (Figura 5.5.A e C), a partir do momento em que se verifica actividade microbiológica. No caso da amostra 15 constata-se o mesmo comportamento para o modelo de Gompertz (Figura 5.5.D).

As constantes cinéticas ( $k_r$  e  $k_s$ ), embora não possam ser directamente comparáveis, visto que foram usadas quantidades diferentes de amostra (1,0 g de A11 e 0,5 g de A15), são superiores para a amostra 15, evidenciando o facto desta amostra ser mais biodegradável do que a amostra 11.

De seguida, a figura 5.7. expõe o ajuste dos modelos matemáticos, para as amostras 20 e 22.



**Figura 5.7.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 20 e 22

A análise visual das curvas modeladas de pressão, referentes às amostras 20 e 22 (Figura 5.7.), comprova que os resultados experimentais podem ser descritos por ambos os modelos. A distinção

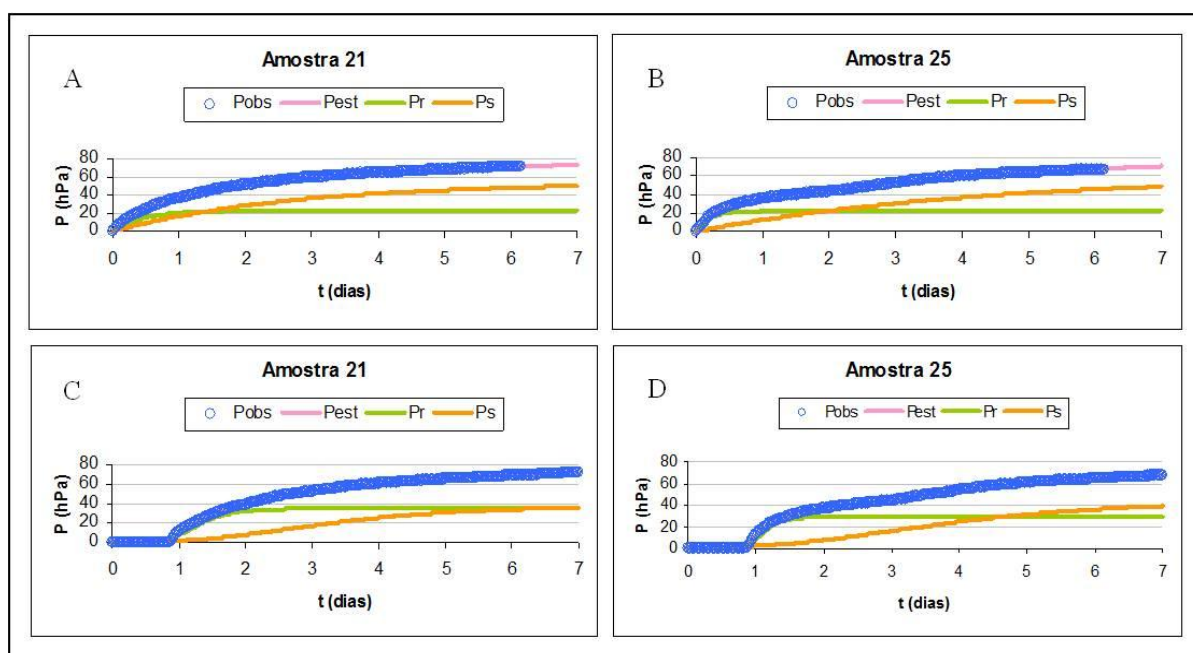
entre as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis permite concluir que os compostos facilmente biodegradáveis são mineralizados num curto período de tempo, cerca de um a dois dias.

Comparando as curvas verificam-se algumas diferenças no comportamento das diferentes fracções. Consta-se uma relativa similaridade entre amostras para o mesmo modelo, mas existe uma discrepância de comportamento para a mesma amostra quando aplicados modelos diferentes. As velocidades de degradação das fracções rapidamente biodegradável ( $k_r$ ) são superiores no ajustamento dos resultados com o modelo de Gompertz, tendo o valor de  $2,74 \text{ d}^{-1}$  para a amostra 20 e  $3,78 \text{ d}^{-1}$  para a amostra 22 (Quadro 5.7.). No entanto, em ambos os modelos (Quadros 5.6. e 5.7.), estas taxas ( $k_r$ ) são superiores no caso da amostra 22, o que indica que existe uma fracção da amostra 22 que é biodegradada com uma velocidade superior à velocidade de biodegradação da amostra 20.

Esta observação vai de encontro ao esperado, uma vez que esta amostra foi sujeita a mais uma operação de lavagem do que a amostra 20, para redução do formaldeído. Tendo em conta que o formaldeído pode ter efeitos inibidores no crescimento microbiano, a redução da concentração desta substância química na amostra 22 possibilitou o aumento da velocidade de degradação inicial ( $k_r$ ). O facto de a concentração de formaldeído não ter sido contabilizada no estudo feito na presente dissertação, apenas permite que se façam suposições acerca da inibição da actividade microbiana por este agente químico .

No entanto, a inibição da actividade microbiológica pelo formaldeído foi comprovada por Pereira (2007) que estudou a biodegradabilidade, em condições anaeróbias, de efluentes contendo diferentes concentrações de formaldeído e que verificou que a constante cinética diminuía com o aumento da concentração de formaldeído. Aplicando o modelo cinético de primeira ordem, o mesmo autor obteve valores para a constante cinética que variavam entre  $0,08 \text{ d}^{-1}$  e  $0,03 \text{ d}^{-1}$ , conforme o aumento da concentração de formaldeído de 109 para 1130 mg/L.

A figura 5.8. apresenta os resultados modelados para os ensaios com as amostras 21 e 25.



**Figura 5.8.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 21 e 25

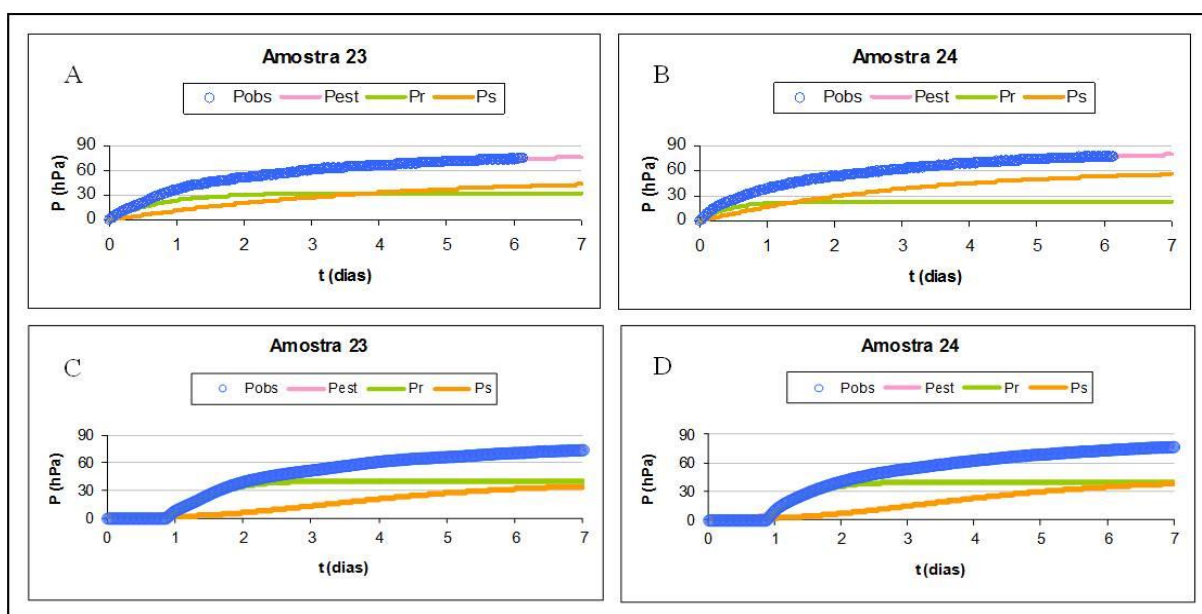
Relativamente ao ajuste dos modelos para as amostras 21 e 25, pode-se apurar, por análise visual da figura 5.8., que este foi satisfatório. Porém, as diferentes fracções biodegradáveis destas amostras demonstram comportamentos bastante diferentes no ajuste com o modelo exponencial (Figura 5.8.A e B).

No caso do modelo exponencial, a fracção facilmente biodegradável da amostra 25 apresenta uma velocidade de degradação ( $k_r$ ) bastante superior, na ordem dos  $4,79 \text{ d}^{-1}$  (Quadro 5.6.). Já a fracção dificilmente biodegradável, para o mesmo modelo, é superior na amostra 21, representando uma percentagem de cerca de 70%. No ajustamento com o modelo de Gompertz (Figura 5.8.C e D) verifica-se alguma similaridade entre as duas amostras, contudo a fracção dificilmente biodegradável tende a estabilizar mais cedo no caso da amostra 21 (Figura 5.8.C).

Ainda relativamente à fracção dificilmente biodegradável da amostra 25, o facto de esta representar uma percentagem acentuada, cerca de 73% no modelo exponencial e 60% considerando o modelo de Gompertz (Quadros 5.6. e 5.7.) pode estar relacionado com as alterações no fabrico desta amostra. O acabamento com recurso a corantes metálicos e resinas pode contribuir para o aumento da percentagem de fracção dificilmente biodegradável, visto que estes agentes químicos são inibidores da actividade microbiana. No entanto, um estudo mais detalhado acerca do tipo de corante utilizado e da sua influência na biodegradabilidade do material de couro deveria ser feito, visto que, tal como descrevem Guaratini e Zanoni (2000), as características estruturais do corante condicionam a sua estabilidade hidrolítica e toxicidade e, conseqüentemente, a biodegradação destes compostos.

Silva *et al.* (2012), avaliando a biodegradabilidade de corantes têxteis pela enzima peroxidase também verificaram que existe uma relação entre a biodegradabilidade e a estrutura molecular destes compostos, estando esta relação dependente do tipo e da quantidade de corante utilizado, bem como da posição dos grupos substituintes no anel aromático e do peso molecular destes compostos.

A figura 5.9 , apresentada de seguida, demonstra o ajuste dos modelos matemáticos, para as amostras 23 e 24, amostras concebidas para a produção de solas.



**Figura 5.9.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 23 e 24

No que respeita às amostras 23 e 24, pode-se constatar pela figura 5.9. que os resultados modelados se ajustam aos resultados experimentais. Também nestas amostras, a componente rapidamente biodegradável é mineralizada nos primeiros dias de ensaio. No entanto, no caso da amostra 23 e para o ajustamento com o modelo exponencial (Figura 5.9.A e C), a estabilização da curva de pressão que representa a fracção rapidamente biodegradável acontece mais tarde (cerca de dois dias).

Porém, a fracção dificilmente biodegradável descrita pelo modelo exponencial (Quadro 5.6.) representa uma percentagem superior (73%) no caso da amostra 24, embora esta fracção também seja expressiva no caso da amostra 23 (63%) .O facto da amostra 24 apresentar coloração, ao contrário da amostra 23, parece indicar que a substância usada no tingimento contribui, ligeiramente, para o aumento da fracção dificilmente biodegradável.

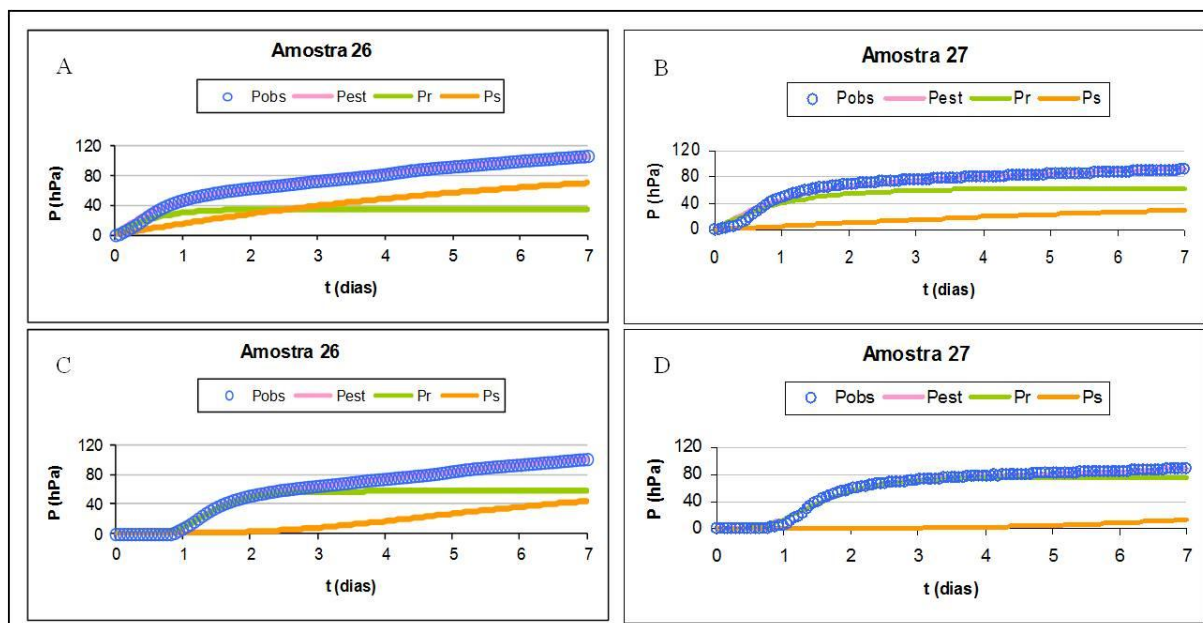
Também para as amostras 23 e 24 se pode averiguar que os comportamentos das fracções diferem entre modelos, contudo verifica-se que o modelo de Gompertz (Figura 5.9.C e D) descreve estas fracções de modo idêntico para as duas amostras.

Relativamente às constantes cinéticas que representam a fracção rapidamente biodegradável ( $k_r$ ), é possível averiguar que estas são superiores para a amostra 24, tendo o valor de  $2,42 \text{ d}^{-1}$  e  $2,62 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente para os modelos exponencial e de Gompertz (Quadros 5.6. e 5.7.). No caso do modelo de Gompertz, a velocidade de degradação da fracção dificilmente biodegradável ( $k_s$ ) é idêntica para as duas amostras ( $0,5 \text{ d}^{-1}$ ), como se pode confirmar pela análise do quadro 5.7.

Rozich e Gaudy (1992), avaliando o efeito da presença de fenóis na degradação de água residuais, demonstraram que as constantes de degradação, encontradas pelo modelo de Monod, diminuíam com o aumento da concentração de fenol presente no substrato. Os autores estimaram valores que variam entre  $0,002 \text{ d}^{-1}$  e  $0,006 \text{ d}^{-1}$ , para concentrações de fenol entre 1000 e 50 mg/L. Valores semelhantes foram também estimados por Agarry e Solomon (2008), que alterando as concentrações de fenol, presente em águas residuais, entre 500 e 100 mg/l, determinaram constantes de degradação entre  $0,0018 \text{ d}^{-1}$  e  $0,005 \text{ d}^{-1}$ .

No estudo efectuado para esta dissertação, não se determinou a concentração de taninos vegetais utilizada no recurtume das amostras 23 e 24, pelo que não se pode determinar a partir de que concentração há inibição do processo de biodegradação.

Na figura 5.10. expressam-se, graficamente, os resultados da aplicação dos modelos exponencial e de Gompertz aos resultados de pressão das amostras 26 e 27.



**Figura 5.10.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados das amostras 26 e 27

Embora a figura 5.10. demonstre que em, termos visuais, os modelos descrevem, adequadamente, os resultados das amostras 26 e 27, o comportamento das curvas que representam as diferentes fracções revela diferenças claras entre as amostras. Entre modelos, as disparidades são mais acentuadas para a amostra 27 (Figura 5.10. B e D). Tendo em conta que estas amostras diferem apenas no acerto de cor, as evidências indicam que o acabamento efectuado na amostra 26 contribuiu para o aumento da fracção dificilmente biodegradável, sendo esta percentagem maior (75%) quando o ajuste é efectuado pelo modelo exponencial (Quadro 5.6)..

Para além disso, as constantes cinéticas ( $k_r$  e  $k_s$ ) expressam valores superiores para a amostra 26, considerando ambos os modelos (Quadros 5.6. e 5.7.). Os valores de  $k_r$  variam entre  $1,79 \text{ d}^{-1}$  e  $2,15 \text{ d}^{-1}$  para a amostra 26 e  $1,04 \text{ d}^{-1}$  e  $1,66 \text{ d}^{-1}$  para a amostra 27, sendo os valores maiores estimados pelo modelo de Gompertz (Quadros 5.6. e 5.7.).

Deste modo, os resultados indiciam que a amostra 26 é mais biodegradável que a amostra 27 e que, portanto, o acerto de cor efectuado à amostra 26 não parece ter tido influência negativa na biodegradabilidade da amostra.

A aplicação dos modelos matemáticos permite estimar a pressão, efectivamente, alcançada aos fim de sete dias. Deste modo, torna-se possível determinar o nível de biodegradação primária alcançado pelas amostras de couro, independentemente da duração da *lag phase* de cada amostra. Assim, quando se faz referência aos resultados estimados a sete dias, contabiliza-se o intervalo temporal de sete dias a partir do momento em que se iniciou o processo de biodegradação, isto é, excluindo a *lag phase*.

Os resultados estimados por modelação referentes à biodegradação das amostras de couro e dos materiais de referência encontram-se dispostos no quadro 5.8.

**Quadro 5.8.** Resultados estimados para 7 dias da biodegradação das amostras de couro e dos materiais de referência

Amostra	COU (mmol O <sub>2</sub> /kg SV)		O <sub>c</sub> (mg O <sub>2</sub> )		Biodegradação (%)	
	Exponencial	Gompertz	Exponencial	Gompertz	Exponencial	Gompertz
11	5007,7	5099,9	145,6	148,3	12,1	12,3
15	8421,1	8440,3	122,8	123,0	22,9	23,0
20	9185,6	9160,2	130,7	130,3	21,2	21,2
21	6453,6	6347,6	88,5	87,1	15,6	15,3
22	8631	8639,7	120,1	120,2	19,7	19,7
23	6146,6	6098,4	92,6	91,9	15,0	14,9
24	6907,8	6925,2	96,0	96,3	16,4	16,4
25	6265,8	6177,6	86,0	84,9	15,8	15,5
26	20333,5	20640,1	127,8	129,7	46,7	47,4
27	18768,6	18748,5	112,6	112,5	41,5	41,4
PST	22025,3	22626	67,0	68,8	55,4	56,8
Amido	22638,1	22215,9	65,3	64,1	62,3	61,2

Comparando os resultados de biodegradação presentes no quadro 5.8. com os apresentados no quadro 5.5., pode-se constatar que os valores de biodegradação estimados para sete dias são ligeiramente superiores aos valores obtidos experimentalmente, como seria de esperar uma vez que os resultados experimentais exprimem os valores num intervalo de tempo inferior a sete dias, visto que há um período de ensaio que acomoda a adaptação dos microrganismos (*lag phase*) ao meio de incubação. Verifica-se também que, de um modo generalizado, a ordem de biodegradabilidade das amostras se mantém a mesma em relação aos valores obtidos experimentalmente, isto é, a amostra 11 é a menos biodegradável e a amostra 26 a mais biodegradável. No entanto, verifica-se uma inversão nesta ordem no caso das amostra 21 e 25, tendo-se estimado que a amostra 21 alcançava um nível de biodegradação inferior ao da amostra 25, o que contraria os resultados obtidos experimentalmente (Quadro 5.5.) que demonstram que a amostra 25 é menos biodegradável que a amostra 21.

De um modo geral, pode-se conferir que os valores de biodegradação estimados por ambos os modelos são similares, embora se verifique que em alguns casos - A23, A25, A27 e amido - o modelo de Gompertz demonstra valores inferiores aos estimados pelo modelo exponencial, exceptuam-se os valores de biodegradação estimados para as amostras de couro 11, 15 e 26 e para o material de referência PST. No entanto, a diferença da percentagem de biodegradação estimada entre modelos é pouco acentuada, não sendo superior a 1,1%.

Dos resultados estimados, pode-se comprovar que a percentagem de biodegradação varia entre 12% e 47% para as amostras de couro e que para os materiais de referência os valores de biodegradação são cerca de 55% e 60%, respectivamente para a PST e para o amido.

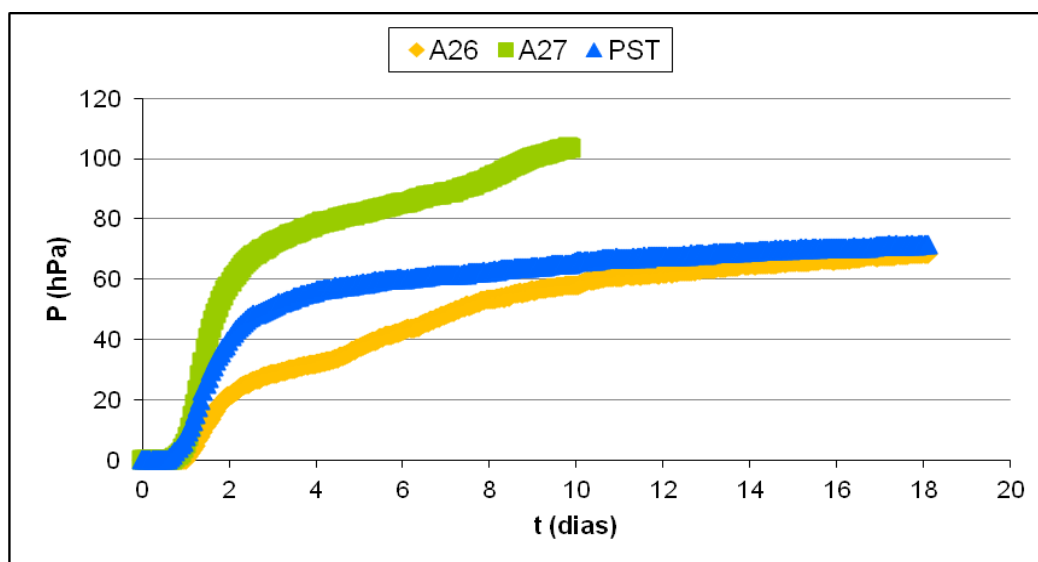
Tendo em conta o estudo desenvolvido por Lopes (2013), que determinou a biodegradabilidade de algumas das amostras de couro descritas nesta dissertação (A11, A15, A20, A21 e A23), em condições de compostagem laboratorial, através da avaliação da produção de CO<sub>2</sub>, verifica-se que existem algumas diferenças nos resultados obtidos pelos dois métodos de ensaio. Embora os valores absolutos



de biodegradação não possam ser directamente comparados com os resultantes da metodologia desta dissertação, dada as diferenças entre as condições de ensaio (e.g. granulometria da amostra, temperatura, meio de ensaio em fase sólida) pode-se avaliar a consistência entre o comportamento da biodegradabilidade das amostras. Este autor chegou a resultados que demonstram que a amostra 15 é a mais biodegradável, seguida das amostras 20, 23, 21, sendo a amostra 11 a menos biodegradável.

De facto, verifica-se que nos ensaios em meio de compostagem, a amostra 23 apresentou maior biodegradabilidade do que a amostra 21, o que não está de acordo com os resultados obtidos pelo sistema OxiTop®. No entanto, se for avaliado, no estudo de Lopes (2013), a diferença entre o nível de biodegradação alcançado pelas amostras 11 e 20 o valor é de cerca de 7% e para as amostras 20 e 15 é de 1%. Estes valores não diferem expressivamente do diferencial de biodegradação obtido nesta dissertação, considerando as amostras 11 e 20, cuja diferença de biodegradação é de 9% e as amostras 20 e 15, que diferem no nível de biodegradação alcançado em 2%.

Um dos objectivos desta dissertação era avaliar a biodegradabilidade última das amostras de couro e expressá-la em função da biodegradabilidade dos materiais de referência, tendo sido realizados ensaios onde se prolongava o tempo para além dos sete dias (Figura 5.11.).



**Figura 5.11.** Queda de pressão registada nos ensaios prolongados para as amostras 26, 27 e PST

Como se pode comprovar pela análise da figura 5.11. a queda de pressão registada nos ensaios prolongados até cerca de 18 dias, caso da amostra 26 e da PST, atinge a estabilização. Esta mesma evidência não é visível para a amostra 27, cuja quantidade utilizada (0,2 g) era superior e, conseqüentemente, a pressão alcançada tinha tendência a ser superior e a atingir os valores limite (-110 a -120 hPa). Desta forma, os ensaios com amostra 27 tiveram uma duração de cerca de metade (9 dias) dos ensaios realizados com a amostra 26 e a PST.

O objectivo destes ensaios era alcançar um nível de estabilização da pressão registada, de forma a facilitar a modelação dos resultados experimentais e a estimativa da biodegradabilidade última das amostras de couro e dos materiais de referência.



O tempo mínimo de ensaio estabelecido nas normas de avaliação da biodegradabilidade última de materiais poliméricos (ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 e ISO 14855-1:2005) é 45 dias, pelo que este representava o limite temporal para o qual o ajuste matemático dos resultados experimentais foi feito (Quadro 5.9). Tal como nos resultados estimados para sete dias, quando se faz referência aos resultados estimados a 45 dias, contabiliza-se o intervalo temporal de 45 dias a partir do momento em que se iniciou o processo de biodegradação.

**Quadro 5.9.** Resultados estimados para 45 dias da biodegradação das amostras de couro e dos materiais de referência

Amostra	COU (mmol O <sub>2</sub> /kg SV)		O <sub>c</sub> (mg O <sub>2</sub> )		Biodegradação (%)	
	Exponencial	Gompertz	Exponencial	Gompertz	Exponencial	Gompertz
11	5625,3	5420,9	157,5	163,4	13,6	13,1
15	8589,2	8523,0	124,2	125,2	23,4	23,2
20	9820,5	9397,2	9820,5	9397,2	22,7	21,7
21	6797,9	6444,8	6797,9	6444,8	16,4	15,6
22	9098,9	8839,0	9098,9	8839,0	20,7	20,2
23	6877,8	6307,3	6877,8	6307,3	16,7	15,4
24	7490,7	7221,0	7490,7	7221,0	17,7	17,1
25	7324,9	6442,3	7324,9	6442,3	18,4	16,2
26	28248,4	26102,0	28248,4	26102,0	65,2	60,3
27	25628,3	26131,2	25628,3	26131,2	56,4	57,5
PST	29553,9	28793,1	29553,9	28793,1	73,9	72,0
Amido	23271,8	22300,4	23271,8	22300,4	64,0	61,4

De facto, pode-se verificar que o ajuste dos resultados a 45 dias permite estimar valores de biodegradação superiores aos estimados para sete dias. No entanto, esta diferença é pouco significativa quando comparada com os resultados para sete dias, nomeadamente nas amostras 11, 15 e 20 a 25 e amido. Contrariamente, no caso das amostras 26 e 27 e da PST é expectável que os materiais de estudo ainda aumentem cerca de 15 a 20 % de percentagem de biodegradação entre o 7º e 45º dia.

Tendo em conta que os ensaios com as amostras 26 e 27 e com a PST foram prolongados, pode-se deduzir que o modelo permite determinar com maior exactidão a percentagem de biodegradação alcançada ao fim de 45 dias devido às evidências experimentais.

No que respeita à PST o nível de biodegradação estimado para 45 dias foi cerca de 70%, o que vai de encontro ao que se encontra descrito na literatura. No caso do colagénio puro, principal constituinte da PST, Bertazzo *et al.* (2012) definem valores mínimos de 70 % aos 25 dias. Tendo em conta que aos 18 dias de ensaio já se alcançou um nível de estabilização aceitável, pode-se deduzir que o nível de biodegradação de 70% foi alcançado antes dos 45 dias estabelecidos e, portanto, não difere substancialmente dos resultados apresentados por Bertazzo *et al.* (2012).

Porém, apesar do prolongamento do tempo de ensaio ter permitido melhorar o ajuste dos modelos, as limitações inerentes ao sistema OxiTop®, nomeadamente, a garantia da disponibilidade de O<sub>2</sub> no meio gasoso, condicionam o processo. Assim, a modelação dos resultados a 45 dias poderá não ser representativa da situação real, em ensaios que não foram prolongados. Pelo que esta dissertação apenas apresenta os resultados estimados a 45 dias, não os contabilizando para avaliação da biodegradabilidade das amostras de couro.

Desta forma, a biodegradação das amostras de couro em sete dias foi expressa em função da biodegradação dos materiais de referência (PST e amido), encontrando-se os valores expressos no quadro 5.10. As normas de avaliação da biodegradabilidade de materiais poliméricos (ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 e ISO 14855-1:2005) apontam o nível de biodegradação do material de estudo face ao material de referência, razão pela qual se procedeu a esta análise.

A avaliação da biodegradação da PST foi também reportada em relação à biodegradação do amido, uma vez que este material foi o que apresentou maior biodegradabilidade nos resultados do método expedito.

**Quadro 5.10.** Resultados da biodegradação das amostras de couro face aos materiais de referência

Amostra	Biodegradação (%)			
	PST		Amido	
	Exponencial	Gompertz	Exponencial	Gompertz
11	21,8	21,7	19,4	20,2
15	41,3	40,4	36,8	37,6
20	38,3	37,3	34,0	34,6
21	28,2	27,0	25,0	25,1
22	35,6	34,7	31,6	32,2
23	27,1	26,2	24,1	24,3
24	29,6	28,9	26,3	26,8
25	28,5	27,3	25,4	25,4
26	84,3	83,4	75,0	77,5
27	74,9	72,9	66,6	67,8
PST	-	-	88,9	92,8

Como se pode confirmar através da análise do quadro 5.10., a biodegradação das amostras de couro expressa em função da biodegradação da PST é superior, do que se for expressa em função da biodegradação do amido. Estes resultados demonstram que a PST é o material de referência que mais se assemelha às amostra de couro, comprovando ainda a similaridade existente no comportamento nas curvas de COU, nomeadamente entre a PST e as amostras 26 e 27.

Os resultados de biodegradação face à PST variam entre 22% e 84%, respectivamente para a amostra menos biodegradável (A11) e mais biodegradável (A26). Considerando este último valor, é possível verificar que o nível de biodegradação alcançado pela amostra 26 (84%) se encontra perto do valor-limite de biodegradação estabelecido para os materiais poliméricos (90%), de acordo com as normas ISO 14852:1999, ISO 14851:2004 e ISO 14855-1:2005. Constata-se esta mesma evidência quando se

considera o nível de biodegradação alcançado pela PST, expresso em função da biodegradabilidade do amido, cerca de 90%. Desta forma, pode-se indicar a PST como o material de referência mais adequado para validação dos resultados de avaliação da biodegradabilidade de materiais de couro.

A análise comparativa entre modelos foi efectuada através da determinação dos parâmetros estatísticos SQR,  $S_e$ , CD e CSM e da probabilidade (*p-value*) de variância entre os resultados experimentais e os resultados estimados para cada modelo. Os resultados que permitem avaliar o modelo que melhor se ajusta estão expostos no quadro 5.11.

**Quadro 5.11.** Parâmetros estatísticos dos modelos ajustados

Amostra	Exponencial					Gompertz				
	SQR	$S_e$	CD	CSM	<i>p-value</i>	SQR	$S_e$	CD	CSM	<i>p-value</i>
11	565	1,35	0,9976	5,99	0,9767	715	1,41	0,9988	6,68	0,9284
15	357	1,02	0,9980	6,21	0,9908	903	1,58	0,9968	5,71	0,9615
20	152	0,68	0,9993	7,23	0,9880	405	1,06	0,9990	6,92	0,8863
21	63	0,45	0,9993	7,24	0,9909	271	0,87	0,9987	6,59	0,9394
22	210	0,81	0,9986	6,56	0,9665	809	1,50	0,9977	6,04	0,8383
23	81	0,51	0,9992	7,15	0,9936	149	0,64	0,9993	7,27	0,9504
24	37	0,34	0,9997	7,94	0,9924	319	0,94	0,9986	6,56	0,9288
25	221	0,83	0,9969	5,75	0,9892	215	0,77	0,9987	6,62	0,9151
26	415	1,84	0,9950	5,23	0,9709	48	0,59	0,9997	7,97	0,9723
27	2026	3,58	0,9776	3,75	0,9690	65	0,62	0,9996	7,71	0,9114
PST	32	0,31	0,9992	7,13	0,9863	116	0,57	0,9987	6,65	0,8487
Amido	52	0,40	0,9987	6,65	0,9713	56	0,39	0,9995	7,54	0,9726

A análise dos parâmetros estatísticos obtidos para as curvas médias (Quadro 5.11.) indicia que, de um modo geral, ambos os modelos descrevem adequadamente os resultados experimentais. Contudo, avaliando globalmente os parâmetros estatísticos determinados, o modelo exponencial dupla parece indicar um melhor ajuste aos resultados experimentais.

As amostras 11, 15 e 20 a 24 apresentam resultados estatísticos que expressam, na generalidade dos parâmetros, que o modelo exponencial parece ser o mais adequado para caracterizar o processo de biodegradação destas amostras, tendo-se constatado a mesma evidência para a PST.

Contudo, é de realçar que a amostra 22 expressa valores que indiciam que o ajustamento é menos preciso, para ambos os modelos. Também os resultados de alguns parâmetros (CD e CSM) da amostra 23 demonstram que a curva de pressão parece ser melhor descrita pelo modelo de Gompertz.

No caso das amostras 25 a 27 e do material de referência - amido, embora os parâmetros estatísticos (SQR,  $S_e$ , CD e CSM) indiquem que o modelo de Gompertz é mais preciso para descrever as curvas de pressão destas amostras, os resultados provenientes da análise de variação ANOVA demonstram que a variância entre os resultados experimentais e os estimados para as amostras 25 e 27, pelo modelo exponencial, é menos significativa.

De acordo com o que referem Motulsky e Christopoulos (2003), a selecção do modelo pela avaliação da SQR pode produzir resultados falaciosos, pois modelos mais complexos (com maior número de parâmetros) produzem curvas mais flexíveis que se ajustam melhor aos dados (menores valores da SQR).

Deste modo, embora os outros parâmetros sejam mais usuais, o CSM e a probabilidade de variância entre os resultados (*p-value*) foram também considerados, pelo facto de fazerem a ponderação dos modelos com base no número de parâmetros a estimar e ser expectável que representem uma medida mais objectiva da qualidade de ajuste (Cutrera *et al.*, 1999).

Considerando os resultados do CSM e de *p-value*, para as curvas médias de pressão, é possível averiguar que o modelo exponencial dupla parece demonstrar um melhor ajuste aos resultados experimentais. Os valores de probabilidades (*p-value*) superiores, na ordem dos 98%, parecem também indicar que se pode aceitar, com um erro de 5%, a hipótese de a variância entre os resultados experimentais e os estimados pelo modelo exponencial dupla não ser significativa. A análise de variância ANOVA aplicada ao modelo de Gompertz demonstra também que os resultados *p-value* são, geralmente, inferiores aos obtidos pelo modelo dupla exponencial, razão pela qual se pode deduzir que os resultados experimentais e os estimados para o modelo de Gompertz apresentam maior variância.

No entanto, é de referir que esta análise foi efectuada apenas para as curvas médias. Os valores da média e do desvio-padrão associados a cada parâmetro (Anexo II – Quadros II.1 a II.24.), calculados para cada material de estudo, demonstram que o modelo exponencial dupla apresenta maiores coeficientes de variação que o modelo de Gompertz. De facto, esta evidência é visível em praticamente todos os parâmetros cinéticos e para todas os materiais de couro, sendo substancialmente superior para os parâmetros que descrevem a fracção rapidamente biodegradável ( $k_r$  e  $P_T$ ).

Deste modo, os resultados parecem indicar que o modelo de Gompertz descreve as curvas de pressão com erros inferiores, ainda mais tendo em conta que este modelo tem maior número de parâmetros cinéticos. De referir ainda que, relacionando a reprodutibilidade dos resultados, com os coeficientes de variação associados a cada parâmetro cinético, seria expectável que estes valores não fossem tão reduzidos quanto o desejado na aplicação de modelos matemáticos. Contudo, pode-se assumir que estes valores são aceitáveis, uma vez que são provenientes de um teste biológico.

# Capítulo 6

## Conclusões e perspectivas de trabalho futuro

A presente dissertação demonstrou que o sistema de medição OxiTop® tem sensibilidade para responder a alterações de concentração de substrato, permitindo determinar a quantidade de amostra a utilizar, de forma a não exceder a capacidade limite de O<sub>2</sub> imposta pelo reactor. Nestes ensaios foi ainda possível atestar que o comportamento das curvas de pressão não é comparável, para diferentes concentrações, quando há inibição do processo por limitações de O<sub>2</sub>.

Os ensaios efectuados para determinação da adequabilidade do material de referência revelaram que a biodegradabilidade primária dos materiais estudados (PST, amido e celulose), obtida experimentalmente, era cerca de 60%. Nestes ensaios foi possível ainda averiguar que a biodegradação da celulose levava mais tempo a iniciar-se, razão pela qual esta foi excluída como material de referência a ser utilizado na avaliação da biodegradabilidade de materiais de couro.

Na determinação da biodegradabilidade primária dos materiais de couro, o método expedito revelou ser capaz de diferenciar entre amostras que sofreram alterações no processo de fabrico, tendo comprovado que a utilização de agentes químicos nocivos prejudicavam os níveis de biodegradação alcançados. Estas diferenças foram mais acentuadas nas melhorias efectuadas das amostras 11 para 15 (aumento da biodegradação de 11,8% para 22,5%) e das amostras 20 para 26 (aumento da biodegradação de 20,6 % para 44%). Desta forma, é possível afirmar que a presença de formaldeído e tingimentos com corantes metálicos inibem o crescimento microbiano, enquanto que acabamentos encerados favorecem o desenvolvimento de populações microbianas.

Relativamente ao processo de recurtume, foi possível constatar que a combinação de taninos vegetais com taninos sintéticos, embora se desconheça a relação utilizada, dificultou o processo de biodegradação, supondo-se que esteja relacionado com a presença de substâncias de elevado peso molecular que são mais difíceis de degradar. Por este motivo, as amostras 23 e 24 demonstraram resultados de biodegradação mais baixos, 14,5% e 16% respectivamente.

Desta forma, pode-se certificar as vantagens da implementação do método expedito na indústria, por possibilitar a obtenção de resultados de biodegradabilidade em sete dias e a optimização da cadeia de produção, uma vez que permite avaliar a influência, na biodegradabilidade, das alterações no processo de fabrico das amostras.

A aplicação dos modelos matemáticos, exponencial e de Gompertz, aos resultados experimentais demonstrou ser uma ferramenta útil para validar os dados e avaliar as fracções rapidamente e lentamente biodegradáveis. Embora o ajuste a 45 dias não tenha sido possível por limitações do sistema, a modelação dos resultados experimentais permitiu ajustar os dados de pressão aos sete dias de ensaio e determinar a biodegradabilidade primária das amostras de couro e dos materiais de referência (PST e amido).

Os resultados de biodegradação estimados para sete dias revelaram que a amostra 26 é a mais biodegradável (47%) e a amostra 11 a menos biodegradável (12%), sendo que as restantes amostras alcançaram níveis de biodegradação entre 15% e 20%. Os resultados de biodegradação estimados em ensaios de sete dias, expressos em função da biodegradação dos materiais de referência, comprovam que a PST é o material de referência mais adequado. Os valores de biodegradação atingidos variam entre 22% e 84%, respectivamente para a amostra menos biodegradável (A11) e mais biodegradável (A26).

Apesar de ambos os modelos se terem ajustado satisfatoriamente aos resultados experimentais, o modelo de Gompertz demonstrou ter menores coeficientes de variação relacionados com a estimação dos parâmetros cinéticos. Contudo, o modelo exponencial dupla permitiu a distinção entre as fracções facilmente e dificilmente biodegradáveis de acordo com o que seria expectável, tendo em conta as alterações no fabrico das amostras de couro. De facto, a percentagem de fracção dificilmente biodegradável estimada, pelo modelo exponencial, era mais elevada no caso das amostras de couro que apresentavam maiores concentrações de formaldeído (A15), recurtumes com taninos vegetais (A24) ou acabamentos com recurso a corantes metálicos e resinas (A25) e que têm efeitos prejudiciais na biodegradabilidade.

O ajuste dos modelos matemáticos possibilitou a compreensão do comportamento do sistema OxiTop® e a optimização do ciclo de fabrico de novos materiais de couro, na medida em que impulsionou a exploração de novos produtos, com minimização das experimentações físicas e consequente redução de custos associados ao procedimento experimental.

Como trabalho futuro é proposto que seja estudada a aplicação de um modelo do tipo Monod, que considere as concentrações de agentes inibidores. Para isso, seria necessário efectuar ensaios com diferentes concentrações dos agentes químicos com efeitos inibidores na actividade microbiana e com diferentes combinações de taninos vegetais e sintéticos. Assim, seria possível determinar a concentração limitante a utilizar no processo de fabrico, nomeadamente de reagentes contendo metais e formaldeído e optimizar o processo de recurtume das amostras desenvolvidas para solas.

Como forma a avaliar o efeito na biodegradação de alterações no meio de ensaio e definir as condições óptimas a estabelecer para a realização do teste, propõe-se que sejam efectuados ensaios com alteração das condições ambientais, como luminosidade, temperatura e pH.

Finalmente, apresenta-se como proposta de estudo futuro a implementação deste sistema para avaliação da biodegradabilidade de outros materiais, como os plásticos biodegradáveis. Uma vez que existem mais estudos relativos à biodegradabilidade destes materiais, contrariamente ao que se verificou no caso do couro, seria importante verificar se os resultados obtidos por este sistema estão em concordância com os estudos realizados e com os valores-limites de biodegradação estabelecidos nas normas de avaliação da biodegradabilidade de materiais poliméricos, tanto para o material de teste como para o material de referência. Assim, para além de ser possível confirmar os resultados obtidos para os plásticos biodegradáveis, pode-se também validar os resultados obtidos para os materiais de couro.

## Referências bibliográficas

- AEP (2011). *Manual de Gestão de Resíduos Industriais*. Projecto Resíduos Menos. Leça da Palmeira. 262 pp. Associação Empresarial de Portugal
- Agarry, S.E., Solomon, B.O. (2008). Kinetics of batch microbial degradation of phenols by indigenous *Pseudomonas fluorescence*. *Environmental Science & Technology*, **5** (2), 223 – 232.
- Barros, M.A.S.D., Arroyo, P.A., Sousa-Aguiar, E.F. (s.d.). *Capítulo IV – O Processamento de Peles*. Instituto de Catalisis y Petroquímica.
- Batista J.G.F., Batista, E.R.B. (2007). *Compostagem – Utilização de compostos em Horticultura*. Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, Açores. 252 pp.
- Bernal, M.P., Sánchez-Monedero, M.A., Paredes, C., Roig, A. (1998). Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. *Ecosystems & Environment*, **69**, 175 – 189.
- Bertazzo, M., Poveda, D., Albert, A., Garcia-Gras, N., Segarra-Orero, V., Roig, M., Matínez-Sanchez, M.A. (2012). System for biodegradability evaluation on leather used in the footwear industry. *Journal of AQEIC*, **63** (3), 61 – 69.
- BLC – Leather Technology Centre. Acedido em 13 de Agosto de 2013, disponível em <http://www.all-about-leather.co.uk/what-is-leather/what-is-leather.htm>.
- Borsuk, M.E., Stow, C.A. (2000). Bayesian parameter estimation in a mixed-order model of BOD decay. *Water Research*, **34** (6), 1830 – 1836.
- Brown, D., Rothery, P. (1993). *Models in biology: Mathematics, Statistics and Computing*. John Wiley & Sons, Chichester, UK. 688 pp.
- Calmon-Decriaud, A., Bellon-Maurel, V., Silvestre, F. (1998). Standard methods for testing the aerobic biodegradation of polymeric materials. Review and perspectives. *Advances in Polymer Science*, **135**, 207 – 226.
- Ceola, D. (2009). *Set up and improvement of OxiTop measuring system for determination of the respiration rate in compost*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente – Perfil de Engenharia Sanitária. Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Chandra, R., Rustgi, R. (1997). Biodegradable Polymers. *Progress in Polymer Science*, **23**, 1273 – 1335.
- Chang, J.I., Tsai, J.J., Wu, K.H. (2006). Composting of vegetable waste. *Waste Management & Research*, **24**, 354 – 362.

- Chatta, J.A., Shaukat, M.M. (2010). *An assessment of environmental concerns in the leather industry and proposed remedies: a case study of Pakistan*. Acedido em 3 de Junho de 2013, disponível em <http://www.environmental-expert.com/Files/0/articles/2226/2045.pdf>
- Chiellini, E., Corti, A., Hemjinda, S., Miertus, S., Krzan, A. (2006) Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics, *Polymer Degradation and Stability*, **91**, 2819 – 2833.
- Chocalheiro, A.L. (2012). *Desenvolvimento de método expedito para medição da biodegradabilidade de novos materiais*. Projecto apresentado para obtenção da Licenciatura em Bioquímica. Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Cointreau, S. (2006). *Occupational and Environmental Health Issues of Solid Waste Management. Special Emphasis on Middle- and Lower-Income Countries*. Urban Sector Board, The World Bank, Washington D.C.. Acedido em 17 de Março de 2013, disponível em <http://siteresources.worldbank.org/INTUSWM/Resources/up-2.pdf>
- Convigton, A.D. (1997). Modern tanning chemistry. *Chemical Society Reviews*.111 – 126.
- CTCP (2012a). *Valorização de resíduos de couro curtidos com crómio*. Centro Tecnológico do Calçado de Portugal. Acedido em 20 de Maio, disponível em <http://www.ctcp.pt/docs/docmediagaleria/373ca0.pdf>
- CTCP (2012b) *Guia de Boas Práticas Ambientais para a Fileira do Calçado*. Centro Tecnológico do Calçado de Portugal. Acedido em 20 de Maio de 2013, em: <http://www.ctcp.pt/docs/docmediagaleria/375umi.pdf>
- Curumes Aveneda (2012). *Processo Produtivo da Indústria do Couro*. Acedido em 14 de Agosto de 2013, disponível em [http://www.aveneda.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=9&Itemid=17&lang=pt](http://www.aveneda.com/index.php?option=com_content&view=article&id=9&Itemid=17&lang=pt)
- Cutrera, G., Manfredi, L., del Valle, C.E., González, J.F. (1999). On the determination of the kinetic parameters for the BOD test. *Water SA*, **25** (3), 377 – 379.
- Danhong, S., Qiang, H., Wenjun, Z., Yulu, W., Bi, S. (s.d.). *Evaluation of environmental impact of typical leather chemicals - Part Ii & Part Iii*. The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Chengdu, China.
- Davey, K.R., Daughtry, B.J. (1994). Validation of a model for predicting the combined effect of three environmental factors on both exponential and lag phases of bacterial growth: temperature, salt concentration and pH. *Food Research International*, **28** (3), 233-237.
- Dhayalan, K., Fathima, N.N., Gnanamani, A., Rao, J.R., Nair, B.U., Ramasami, T. (2007). Biodegradability of leathers through anaerobic pathway. *Waste Management*, **27**, 760 – 767.
- Directiva 2008/98/CE do Parlamento Europeu e Conselho, de 22 de Novembro de 2008, relativa aos resíduos.
- EN 13432 (2000). *Packaging – Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation – Test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging*.
- EN 16087-1 (2011). *Soil improvers and growing media - Determination of the aerobic biological activity - Part 1: Oxygen uptake rate (OUR)*.
- EN 45001 (1989). *General criteria for the operation of testing laboratories*.



- Epifâneo, L.C. (2003). *Contribuição para o Estudo da Influência de Dióxido de Carbono no Processo de Biodegradação (Reactor Fed-Batch Proporcional)*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente – Perfil de Engenharia Sanitária. Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 244 pp.
- Eubeler, J.P., Bernhard, M., Zok, S., Knepper, T.P. (2009). Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures. *Trends in Analytical Chemistry*, **28** (9), 1057 – 1071.
- Euroleather (2013). Acedido em 13 de Agosto de 2013, disponível em <http://www.euroleather.com/index.php/leather.html>
- Eurostat (2010). *Generation and treatment of municipal waste*. Statistics in focus, European Commission. Acedido em 10 de Março de 2013, disponível em [http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY\\_OFFPUB/KS-SF-11-031/EN/KS-SF-11-031-EN.PDF](http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-SF-11-031/EN/KS-SF-11-031-EN.PDF)
- Fan, Y., Wang, Y., Qian, P., Gu, J. (2004). Optimization of phthalic acid batch biodegradation and the use of modified Richards model for modeling degradation. *Biodeterioration & Biodegradation*, **53**, 57 – 63.
- Ferreira, F.M.S., (2006), *Modelação e Gestão Integrada de Sistemas de Águas Residuais*. Tese para obtenção de grau de Doutor em Engenharia Civil. Instituto Superior Técnico, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Ferreira, M.J., Almeida, M.F., Pinho, S.C., Santos, I.C. (2010). Finished leather waste chromium acid extraction and anaerobic biodegradation of the products. *Waste Management*, **30**, 1091 – 1100.
- Fuck, W.F., Gutterres, M. (2008). Produtos químicos perigosos e de uso restrito no couro. *Tecnicouro*, 82 – 89.
- Fuck, W.F., Gutterres, M., Jesus, M.A. (2011). *Desenvolvimento de biocorantes aplicados na produção de couro*. Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 7 pp.
- Gaião, J. (3 de Outubro de 2013). Comunicação pessoal. CTIC - Centro Tecnológico das Indústrias do Calçado, Laboratório de Ensaios Físico-Mecânicos.
- Gertsev, V.I., Gertseva, V.V. (2004). Classification of mathematical models in ecology. *Ecological Modelling*, **178**, 329 – 334.
- Gijzen, H.J. (2002). Anaerobic digestion for sustainable development a natural approach. *Water Science and Technology*, **45** (10), 321 – 328.
- Goméz, R.B., Lima, F.V., Ferrer, A.S. (2006). The use of respiration indices in the composting process: a review. *Waste Management & Research*, **24**, 37 – 47.
- Gonçalves, E. (2007). *Efeito de diferentes curtentes sobre as propriedades de couros isentos de cromo*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Gestão Tecnológica – Qualidade Ambiental. Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, Brasil. 110 pp.
- Grady, C.P.L. (1985). Biodegradation: Its measurement and microbiological basis. *Biotechnology and Bioengineering*, **27**, 660 – 674.
- Guaritini, C.C.I., Zanoni, M.V.B. (2000). Corantes têxteis. *Química Nova*, **23** (1), 71-78.
- Hamelers, H.V.M. (2004). Modeling composting kinetics: A review of approaches. *Environmental Science & Bio/Technology*, **3**, 331 – 342.

- Haslam, E. (1989). *Plant Polyphenols: Vegetable Tannins Revisited*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 230 pp.
- Haug, R.T. (1993). *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Lewis Publishers, Boca Raton. 717 pp.
- He, Q., Yao, K., Sun, D., Shi, B. (2007). Biodegradability of tanning-containing wastewater from leather industry. *Biodegradation*, **18**, 465 – 472.
- Iannotti, D.A., Pang, T., Toth, B.L., Elwell, D.L., Keener, H.M., Hoitink, H.A.J. (1993). A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science & Utilization*, **1** (3), 52 – 65.
- ICT – International Council of Tanners. Acedido em 14 de Agosto de 2013, disponível em <http://www.tannerscouncil.org/introtoleather.htm>
- INCD ECOIND (2013). *International Symposium “The Environment and the Industry”*. Bucureste. National Research and Development Institute for Industrial Ecology. Acedido em 7 de Novembro de 2013, disponível em <http://www.incdcoind.ro/download/SIMI%202013-Abstracts.pdf>.
- INESCOP (s.d.). *Manual for oxazolidine tanned leather*. Life+ Project “Environmentally Friendly Oxazolidine-Tanned Leather (OXATAN)”. 103 pp. Center for Technology and Innovation. Acedido em 27 de Julho de 2013, disponível em [http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=OXATAN\\_Manual\\_Curticion.pdf](http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=OXATAN_Manual_Curticion.pdf).
- INETI (2000). *Guia Técnico – Sector dos Curtumes*. Lisboa. Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação.
- IPCC (2003). *Reference Document on Best Available Techniques for the Tanning of Hides and Skins*. Integrated Pollution Prevention and Control , Comissão Europeia.
- ISO 14851 (2004). *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium – Method by measuring the oxygen demand in a closed respirometer*.
- ISO 14852 (1999). *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium –Method by analysis of evolved carbon dioxide*.
- ISO 14855-1 (2005). *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions – Method by analysis of evolved carbon dioxide – Part 1: General method*.
- Joseph, K., Nithya, N. (2009). Material flows in the life cycle of leather. *Journal of Cleaner Production*, **17** (7), 676 – 682.
- Kaiser, J. (1996). Modelling composting as a microbial ecosystem: a simulation approach. *Ecological Modelling*, **91**, 25 – 37.
- Kanagaraj, J., Velappan, K.C., Babu, N.K.C., Sadulla, S. (2006). Solid wastes generation in the leather industry and its utilization for cleaner environment – A review. *Journal of Scientific & Industrial Research*, **65**, 541 – 548.
- Krishnamoorthy, G., Sadulla, S., Sehgal, P.K., Mandal, A.B. (2012). Green chemistry approaches to leather tanning process for making chrome-free leather by unnatural amino acids. *Journal of Hazardous Materials*, **215-126**, 173 – 183.

- Kuokkanen, T., Vähäoja, P., Välimäki, I., Lauhanen, R. (2004). Suitability of the respirometric BOD oxitop method for determining the biodegradability of oils in ground water using forestry hydraulic oils as model compounds. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **84** (9), 677 – 689.
- Lasaridi, K.E., Stentiford, E. I. (1998). A simple respirometric technique for assessing compost stability. *Water Research*, **32** (12), 3717 – 372.
- Levenspiel, O. (1999). *Chemical reaction engineering*, 3<sup>rd</sup> edition. John Wiley & Sons, USA. 668 pp.
- Levy, J.Q., Cabeças, A.J. (2006). *Resíduos Sólidos Urbanos: princípios e processos*. Associação das Empresas Portuguesas para o sector do Ambiente, Lisboa. 331 pp.
- Lopes, P. N. D. (2013). *Desenvolvimento de metodologia para avaliação da compostabilidade do couro - contributo para estabelecimento de norma técnica*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente - Perfil de Engenharia Sanitária. Faculdade de Ciência e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Martinelango, P. (2002). *Multidimensional instrumental analysis of wet-blue leather hydrolysate*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Química. Universidade de Tecnologia do Texas, USA. 68 pp.
- Martinho, M.G.M., Gonçalves, M.G.P., Silveira, A.I.E. (2011). *Gestão Integrada de Resíduos*. Universidade Aberta, Lisboa.
- Mason, I.G. (2006). Mathematical modelling of the composting process: A review. *Waste Management*, **26**, 3 – 21.
- Mason, I.G., McLachlan, R.I., Gérard, D.T. (2006). A double exponential model for biochemical oxygen demand. *Bioresource Technology*, **97**, 273 – 282.
- Mason, I.G. (2008). An evaluation of substrate degradation patterns in the composting process. Part 1: Profiles at constant temperature. *Waste Management*, **28**, 1598 – 1608.
- Matsinhe, C.C. (2011). *Studies on the influence of organic waste biodegradability in the composting process*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química. Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade de Coimbra, Coimbra. 73 pp.
- McDowell, W.H., Zsolnay, A., Aitkenhead-Peterson, J.A., Greforich, E.G., Jones, D.L., Jödemann, D., Kalbitz, K., Marschner, B., Schwesig, D. (2006). A comparison of methods to determine the biodegradable dissolved organic carbon from different terrestrial sources. *Soil Biology & Biochemistry*, **38**, 1933 – 1942.
- Metcalf & Eddy (2003). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. McGraw-Hill Companies Inc., USA. 1819 pp.
- Motulsky & Christopoulos (2003). *Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression. A practical guide to curve fitting*. GraphPad Software Inc., San Diego. 351 pp.
- Nirmalakhandan, N. (2001). *Modeling tools for environmental engineers and scientists*. CRC Press, Boca Raton. 312 pp.
- Nogueira, F.G.E., Castro, I.A., Bastos, A.R.R., Souza, G.A., Carvalho, J.G., Oliveira, L.C.A. (2011). Recycling of solid waste rich in organic nitrogen from leather industry: Mineral nutrition of rice plants. *Journal of Hazardous Materials*, **186** (2-3), 1064 – 1069.
- Obayashi, A.W., Gorgan, J.M. (1985). *Management of Industrial Pollutants by Anaerobic Processes*. Lewis Publishers, INC., Chelsea. 193 pp.

- OECD (1983). *Principles on good laboratory practice*. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD (2000). *Strategic Waste Prevention*. Environment Policy Committee, Pollution Prevention and Control. Paris. Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD (2005). *OECD Guidelines for testing of chemicals. Part 1: Principles and strategies related to the testing of degradation of organic chemicals*. Organisation for Economic Co-operation and Development. Acedido em 18 de Março de 2013, disponível em <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/34898616.pdf>.
- Oke, I.A., Akindahunsi, A.A. (2005). A Statistical Evaluation of Methods of Determining BOD Rate. *Journal of Applied Sciences Research*, **1** (2), 223 – 227.
- O'Malley, L.P. (2006). Evaluation and modification of the OECD 301F respirometry biodegradation test with regard to test substance concentration and inoculums. *Water, Air and Soil Pollution*, **177**, 251 – 265.
- Orlita, A. (2004). Microbial biodeterioration of leather and its control: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **53**, 157 – 163.
- Pagga, U., Beimborn, D. B., Yamamoto, M. (1996). Biodegradability and compostability of polymers - Test methods and criteria for evaluation. *Journal of Environment Polymer Degradation*, **4** (3), 173 – 178.
- Pagga, U. (1997). Testing Biodegradability with Standardized Methods. *Chemosphere*, **35** (12), 2953 – 2972.
- Pagga, U. (1999). Compostable packaging materials – test methods and limit values for biodegradation, *Applied Microbiology & Biotechnology*, **51**, 125 – 133.
- Pagga, U., Schäfer, A., Müller, R., Pantke, M. (2001). Determination of the aerobic biodegradability of polymeric material in aquatic batch tests. *Chemosphere*, **42**, 319 – 331.
- Pereira, N.S. (2007). *Degradação anaeróbia de formaldeído em reator operado em bateladas sequenciais contendo biomassa imobilizada*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, Brasil. 87 pp.
- PESGRI (2001). *Plano Estratégico dos Resíduos Industriais*. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.
- Petric, I., Selimbašić, V. (2008). Development and validation of mathematical model for aerobic composting process. *Chemical Engineering Journal*, **139**, 304 – 317.
- PNAPRI (2001). *Plano Nacional de Prevenção de Resíduos Industriais*. Lisboa. Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação.
- PNGR (2011). *Plano Nacional de Gestão de Resíduos – Proposta de PNGR*. Lisboa. 128 pp. Agência Portuguesa do Ambiente.
- Ponsá, S., Puyuelo, B., Gea, T., Sánchez, A. (2011). Modelling the aerobic degradation of organic wastes based on slowly and rapidly degradable fractions. *Waste Management*, **31**, 1472 – 1479.
- Rennó, C.D., Soares, J.V. (2000). *Modelos Hidrológicos para Gestão Ambiental – Relatório Técnico Parcial in Programa de Ciência e Tecnologia para Gestão de Ecossistemas, Acção “Métodos, modelos e geoinformação para a gestão ambiental”*. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasil.

- Reuschenbach, P., Pagga, U., Strotmann, U. (2003). A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods. *Water Research*, **37**, 1571 – 1582.
- Rozich, A. F., Gaudy, A. F. (1992). *Design and Operation of Activated Sludge Processes Using Respirometry*. Lewis Publishers, INC., Chelsea. 189 pp.
- Rushton, L. (2003). Health hazards and waste management in The British Council 2003. *British Medical Bulletin*, **68**, 183 – 197.
- Sadaka, S.S., Richard, T.L., Loecke, T.D., Liebman, M. (2006). Determination of compost respiration rates using pressure sensors. *Compost Science & Utilization*, **14** (2), 124 – 131.
- Salgueiro, T. (3 de Outubro de 2013). Comunicação pessoal. ANC - António Nunes de Carvalho, S.A.
- Santo, I.A.C.P.E. (2001). *Modelação e Estimação de Parâmetros*. Prova de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica. Universidade do Minho, Braga. 74 pp.
- Santos Oliveira, J. (1982). *Operações e Processos Fundamentais em Engenharia Sanitária, Fundamentos de Depuração Biológica*, Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade Nova de Lisboa, Monte de Caparica. 256 pp.
- Sawada, H. (1998) ISO standard activities in standardization of biodegradability of plastics – development of test methods and definitions, *Polymer Degradation and Stability*, **59**, 365 – 370.
- Silva, M.C., Corrêa, A.D., Torres, J.A., Amorim, M.T.S.P. (2012). Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). *Química Nova*, **35** (5), 889-894.
- Simkins, S., Alexander, M. (1984). Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density. *Applied and Environmental Microbiology*, **47** (6), 1299 – 1306.
- Sole-Mauri, F., Illa, J., Magrí, A., Prenafeta-Boldú, F.X., Flotats, X. (2007). An integrated biochemical and physical model for the composting process. *Bioresource Technology*, **98**, 3278 – 3293.
- Spiegel, M.R. (1978). *Probabilidade e estatística*. Makron Books, McGraw-Hill, São Paulo, Brasil. 518 pp.
- Soler, C.P. (2008). *Individual-based modelling of bacterial cultures in the study of the lag phase*. Tese de Doutoramento. Escola Superior de Agricultura - Universidade Politécnica de Catalunha, Castelldefels. 196 pp.
- Stow, C.A., Jackson, L.J., Carpenter, S.R. (1999). A mixed-order model to assess contaminant declines. *Environmental Monitoring and Assessment*, **55**, 435 – 444.
- Swinnen, I.A.M., Bernaerts, K., Dens, E.J.J., Geeraerd, A.H., Van Impe, J.F. (2004). Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**, 137 – 159.
- Taylor, M., Brown, E., Marmer, W., Cot, J., Carrió, R., Cabeza, L., DiMaio, G. (1998) Processing of leather waste: pilot scale studies on chrome shavings: Isolation of potentially valuable protein products and chromium, *Waste Management*, **18**, 211 – 218.
- Thanikaivelan, P., Rao, J.R., Nair, B.U., Ramasami, T. (2004). Progress and recent trends in biotechnological methods for leather processing. *Trends in Biotechnology*, **22** (4), 181 – 188.

- Tosun, I., Gönüllü, M.T., Arslankaya, E., Günay, A. (2008). Co-composting kinetics of rose processing waste with OFMSW. *Bioresource Technology*, **99**, 6143 – 6149.
- UNIDO (2000). *Wastes generated in the leather products industry in 14<sup>th</sup> Meeting of the UNIDO Leather Panel*. United Nations Industrial Development Organization. Acedido em 28 de Abril de 2013, disponível em: <http://www.unido.org/fileadmin/import/userfiles/timminsk/leatherpanel14ctcwastes.pdf>.
- Vanrolleghem, P.A., Insel, G., Petersen, B., Sin, G., De Pauw, D., Nopens, I., Dovermann, H., Weijers, S., Gernaey, K. (2003). *A comprehensive model calibration procedure for activated sludge models in 76th Annual Technical Exhibition and Conference*, Los Angeles, USA.
- Veeken, A.H.M., Wilde, V., Hamelers, H.V.M. (2003). *OxiTop® measuring system for standardised determination of the respiration rate and N-mineralisation rate of organic matter in waste material, compost and soil*. Agrotechnology and Food Sciences – Wageningen University.
- Wenning, M., Zhanpeng, J., Xiasheng, G. (1995). A test method for determining biodegradability of organic substances. *Journal of Environmental Sciences*, **7** (2), 146 -150.
- Wilk, R. (2002). Consumption, human needs and global environmental change. *Global Environmental Change*, **12**, 5 – 13.
- WTW (s.d.). *Biochemical Oxygen Demand*. Acedido em 2 de Março de 2013, disponível em [http://www.wtw.de/fileadmin/upload//Kataloge/Labor/US/Lab\\_088\\_105\\_BOD-and-Respiration\\_1039-kb\\_US-pdf.pdf](http://www.wtw.de/fileadmin/upload//Kataloge/Labor/US/Lab_088_105_BOD-and-Respiration_1039-kb_US-pdf.pdf)
- Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, **56** (6), 1875 – 1881.

## **Anexos**

**Anexo I** - Resultados experimentais de P e COU por frasco

**Anexo II** - Resultados modelados de P por frasco





Resultados experimentais de P e COU por frasco

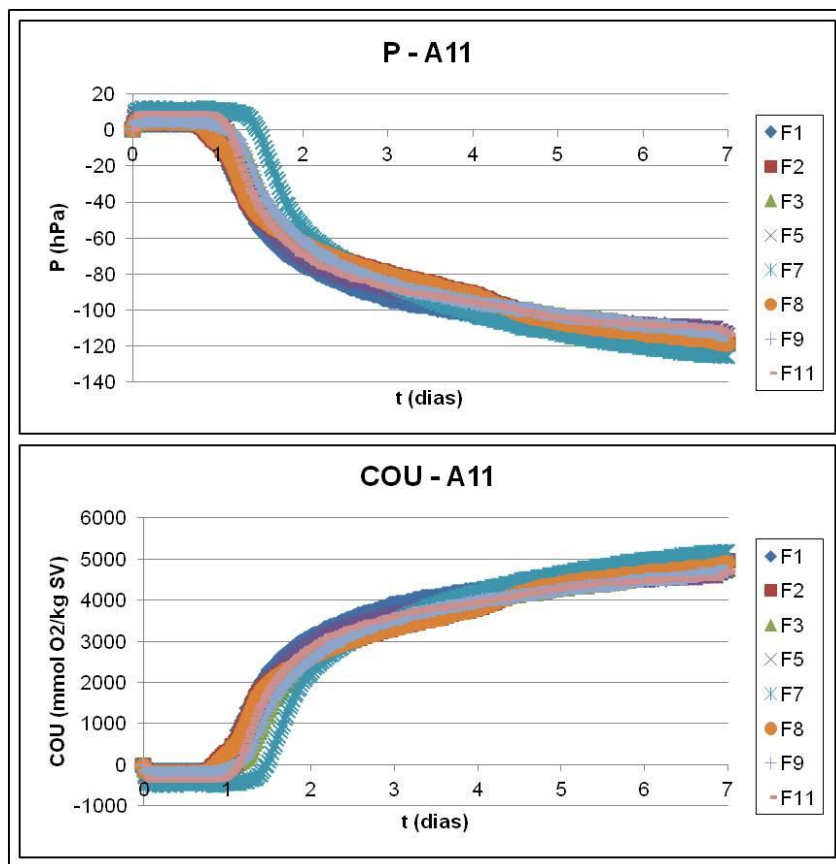
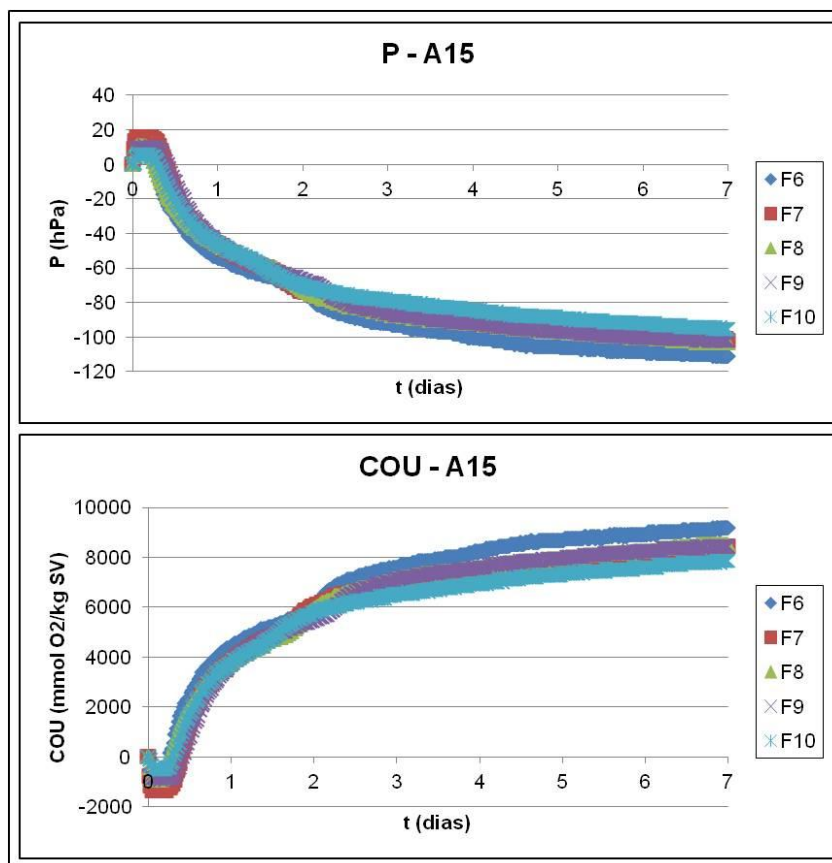
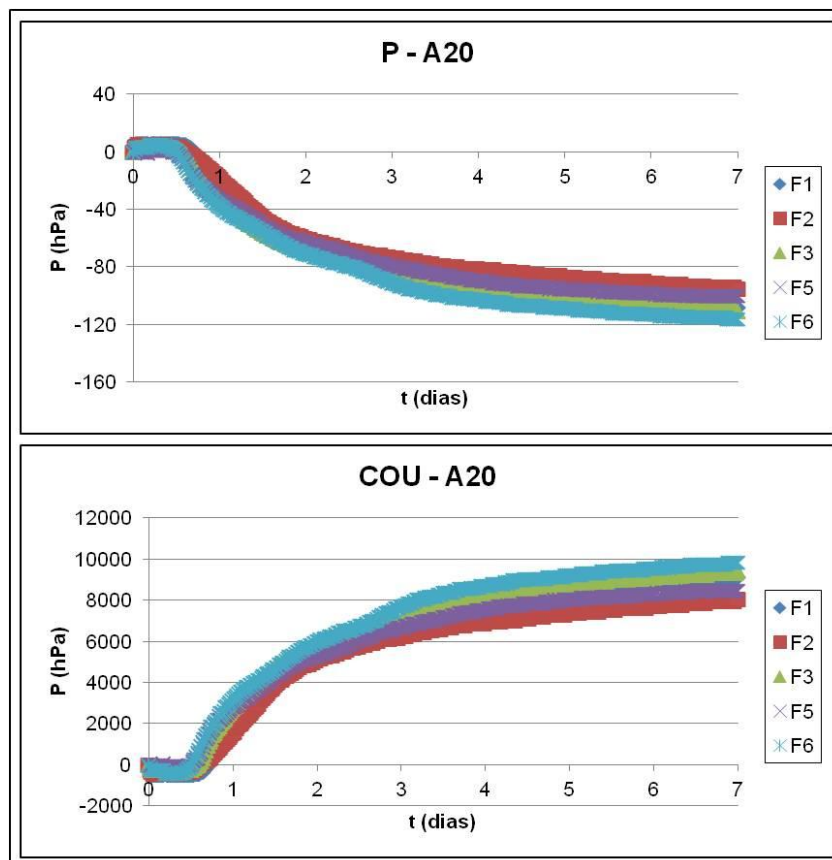


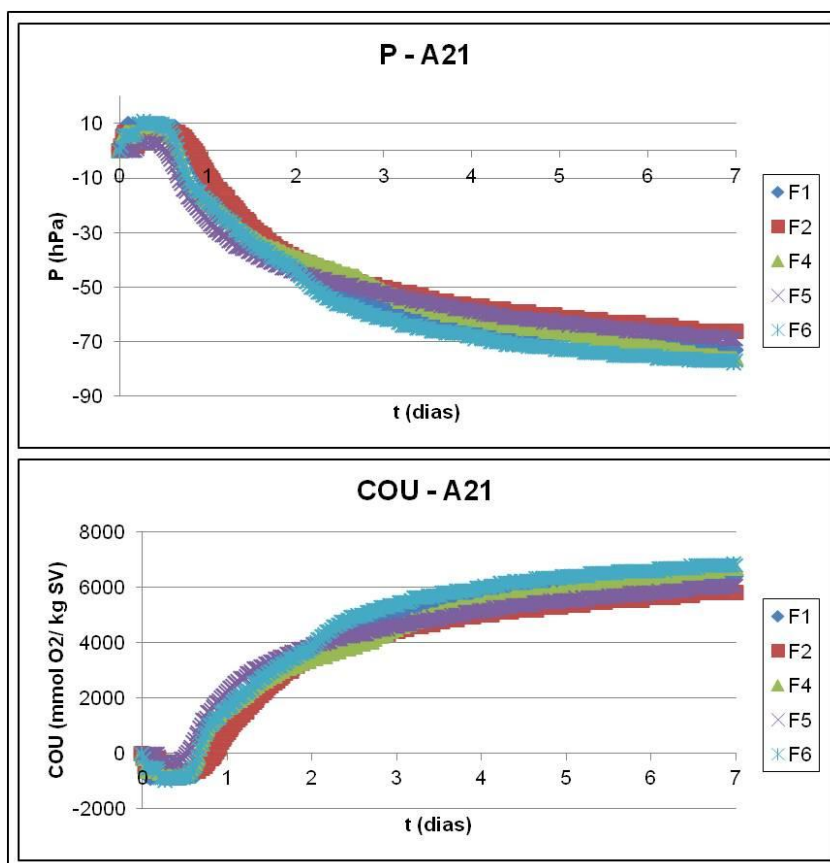
Figura I.1. Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 11



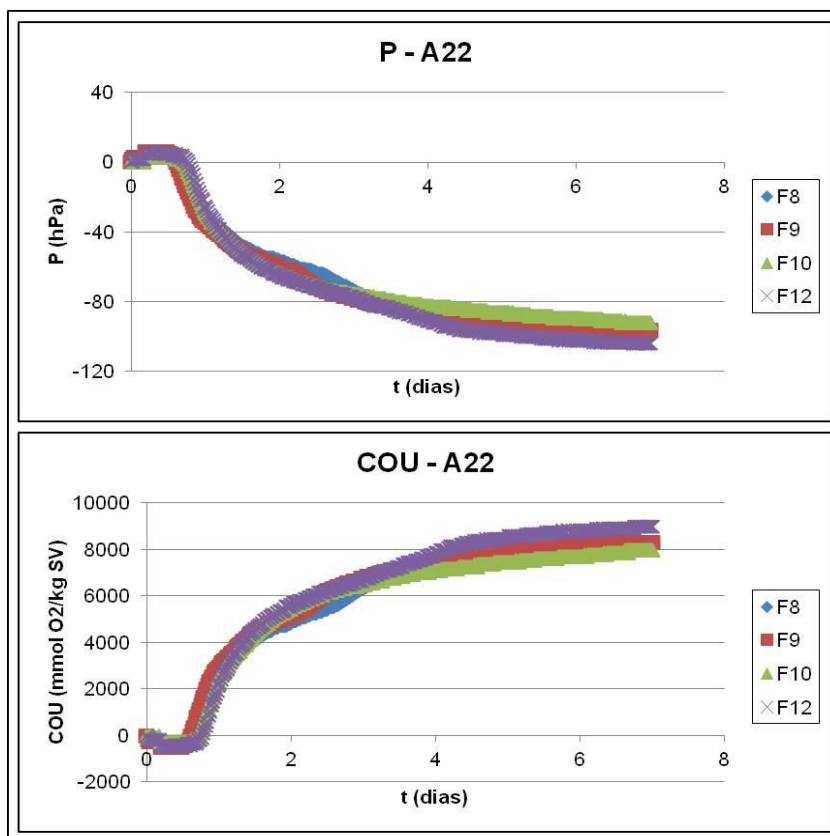
**Figura I.2.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 15



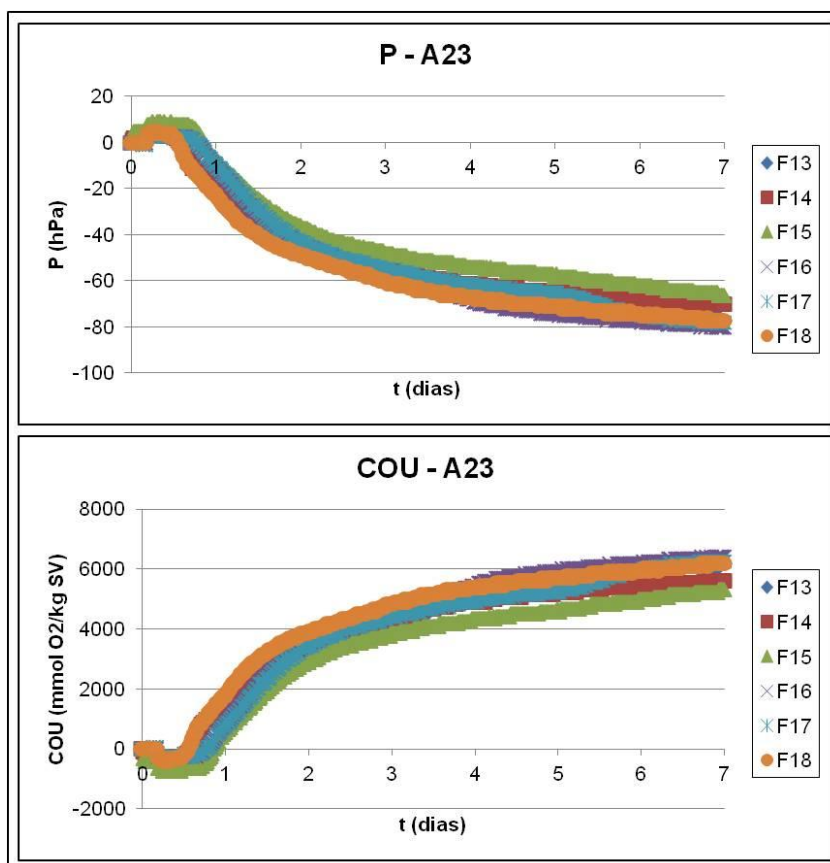
**Figura I.3.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 20



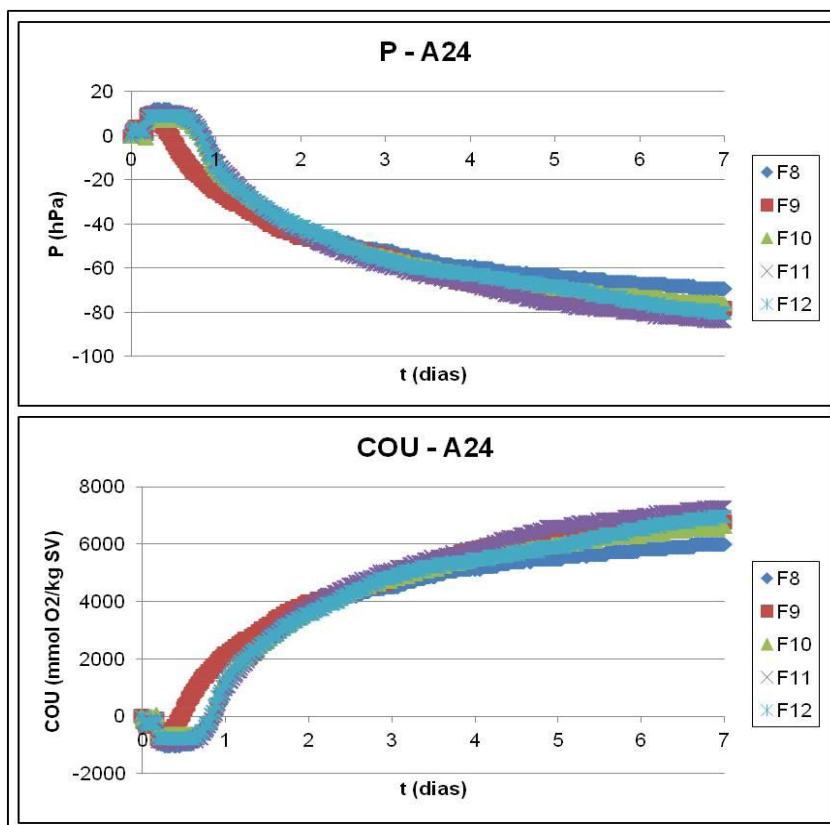
**Figura I.4.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 21



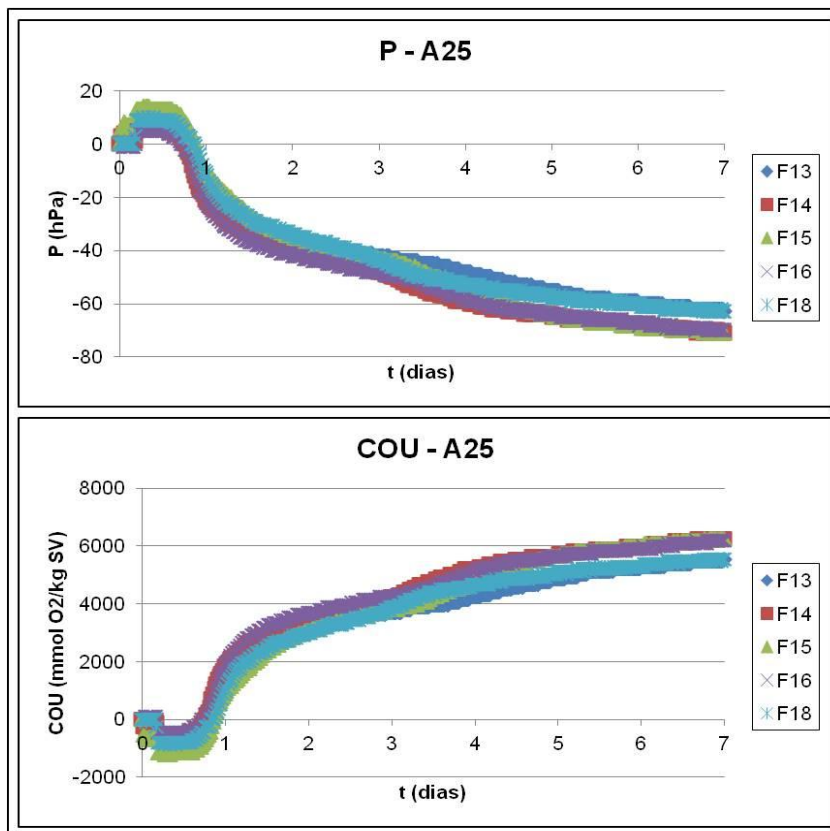
**Figura I.5.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 22



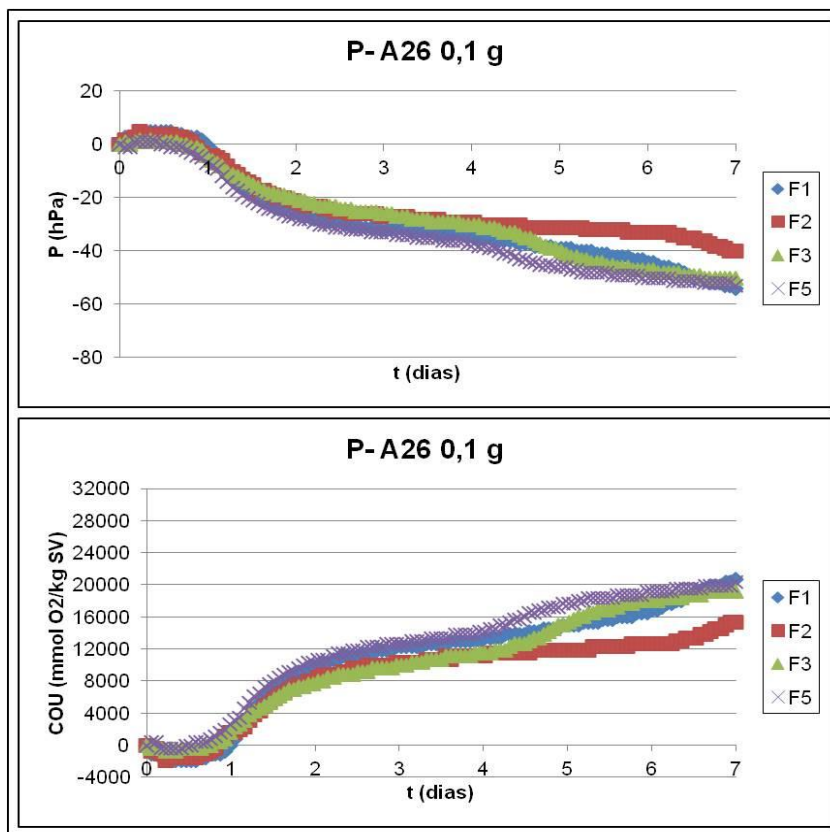
**Figura I.6.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 23



**Figura I.7.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 24



**Figura I.8.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 25



**Figura I.9.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de amostra 26, ensaio com 0,1 g

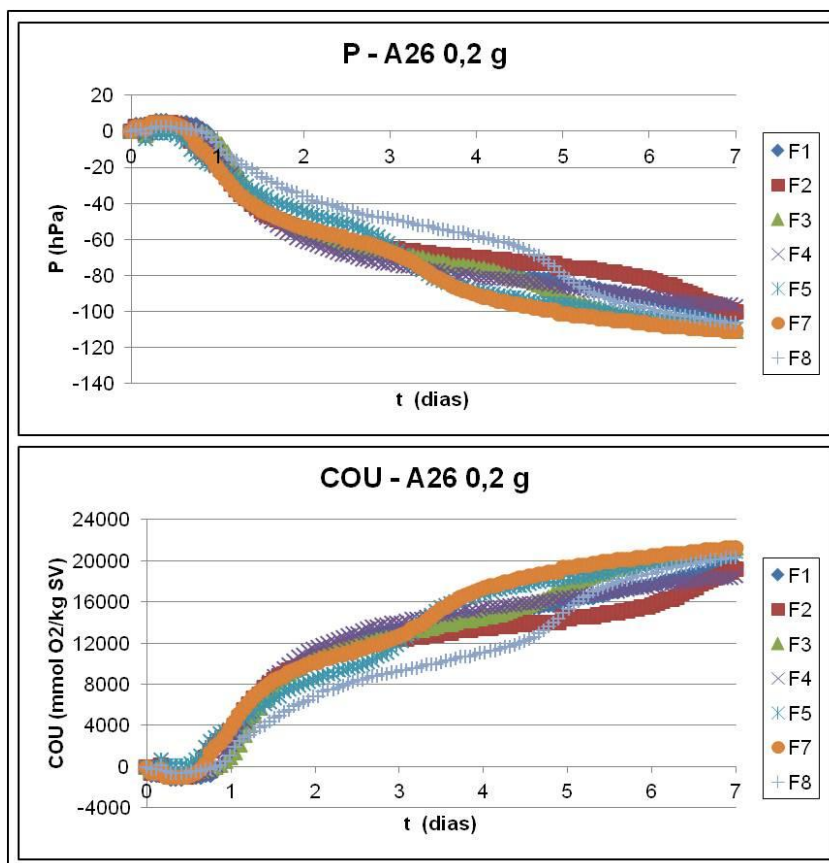


Figura I.10. Pressão e consumo de oxigênio dos frascos de amostra 26, ensaio com 0,2 g

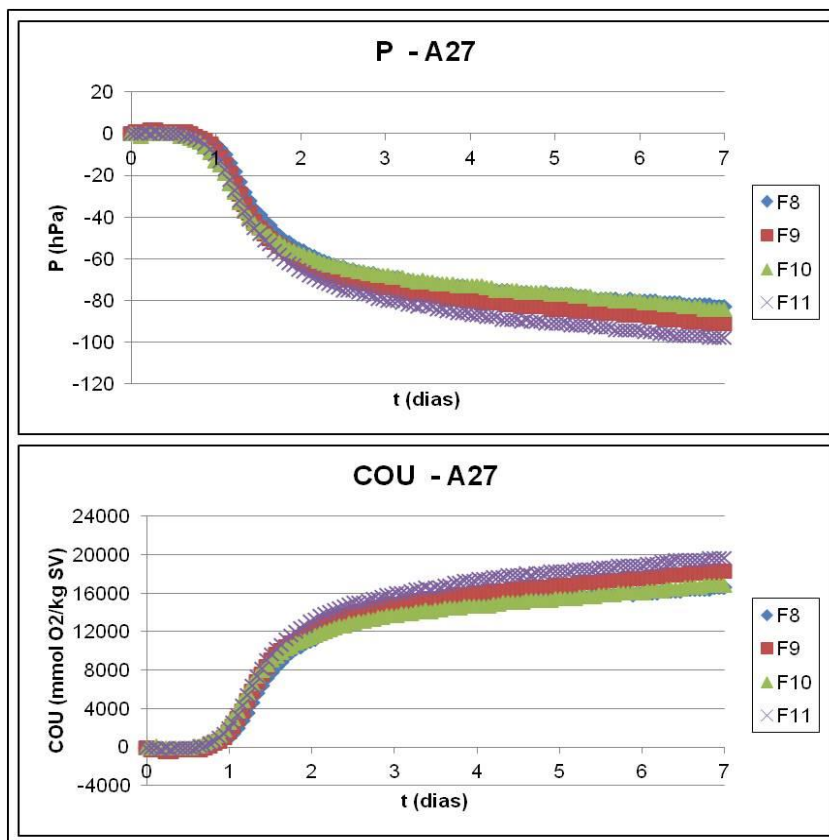
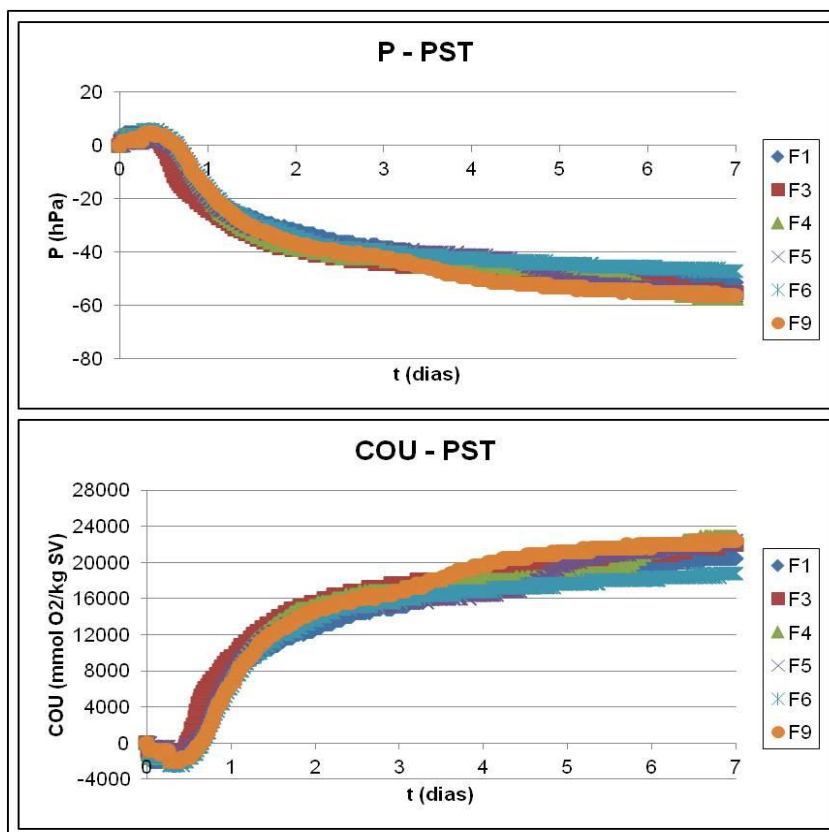
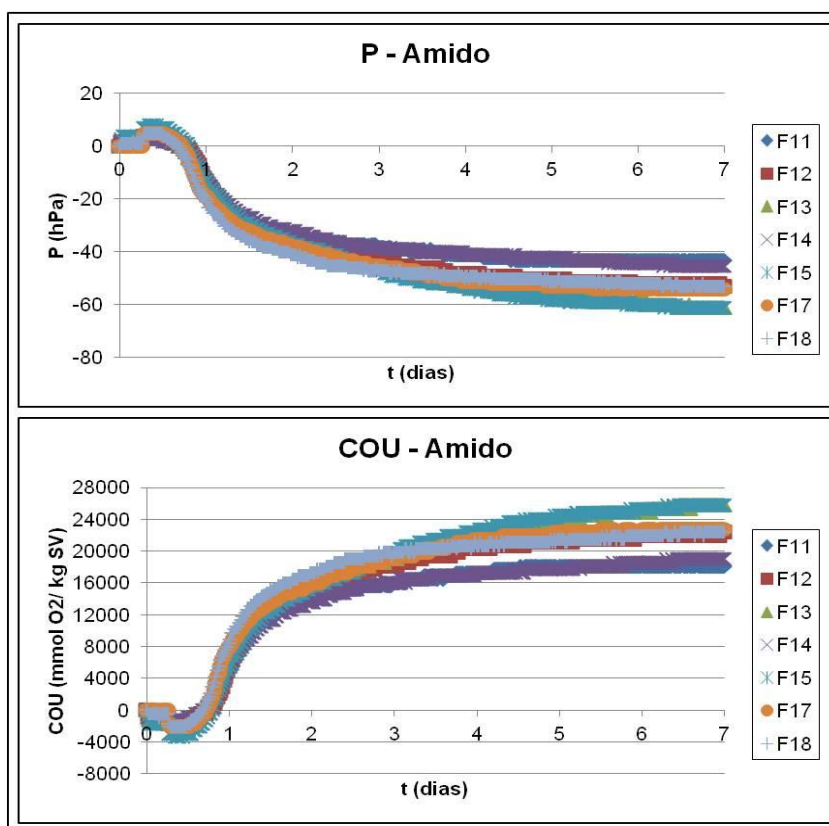


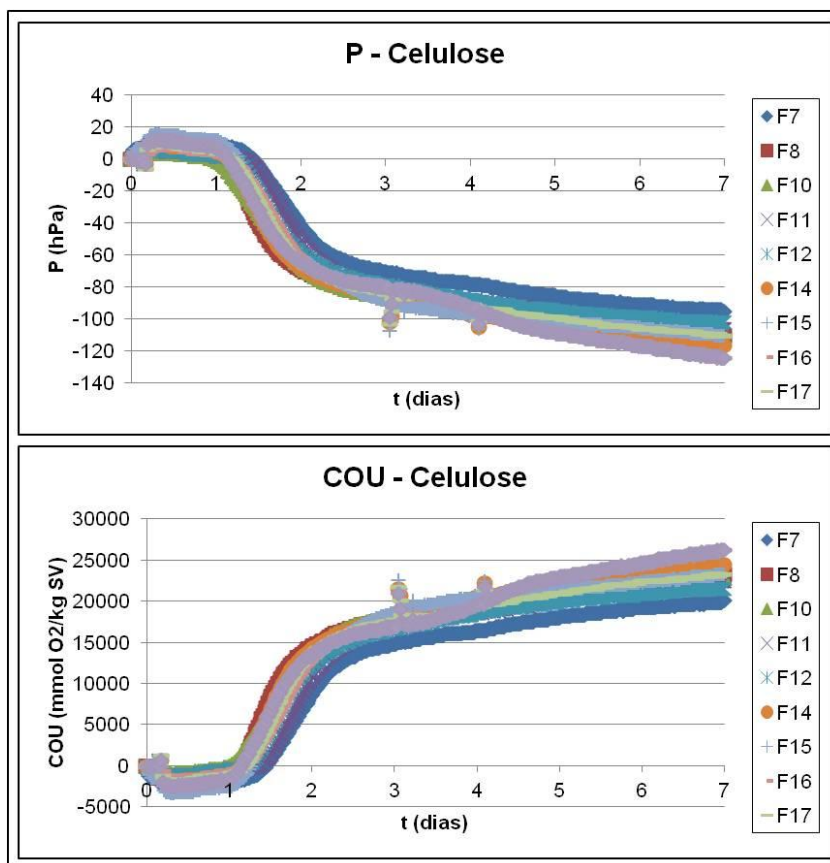
Figura I.11. Pressão e consumo de oxigênio dos frascos de amostra 27



**Figura I.12.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de PST



**Figura I.13.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de Amido



**Figura I.14.** Pressão e consumo de oxigénio dos frascos de Celulose



Resultados modelados de P por frasco

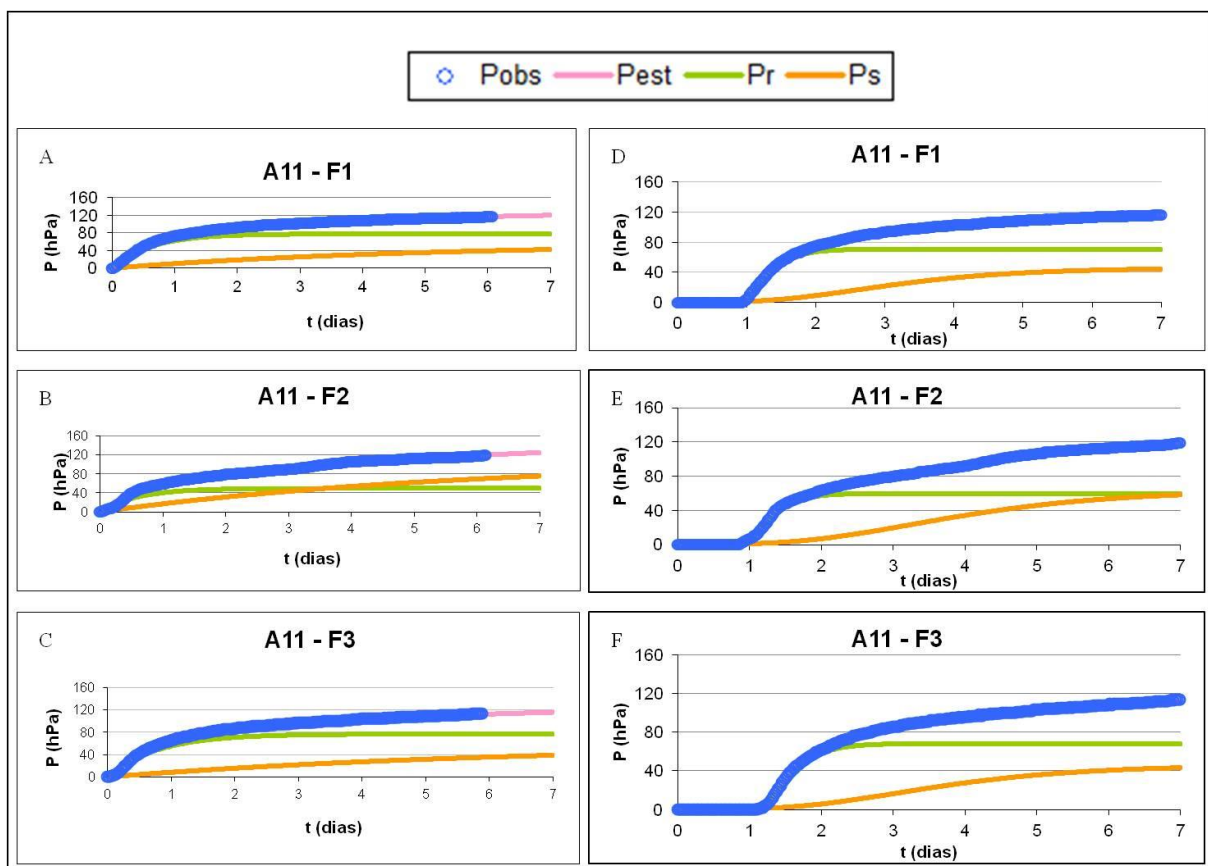
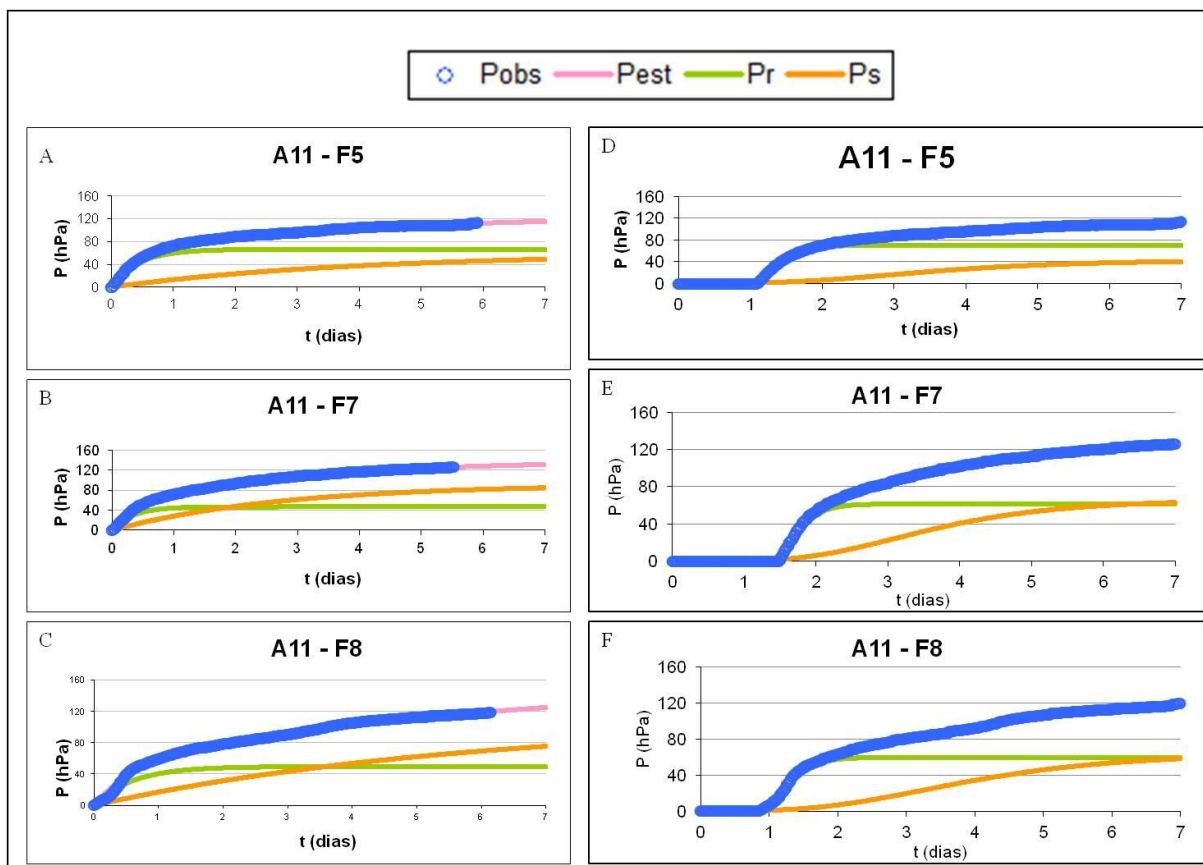
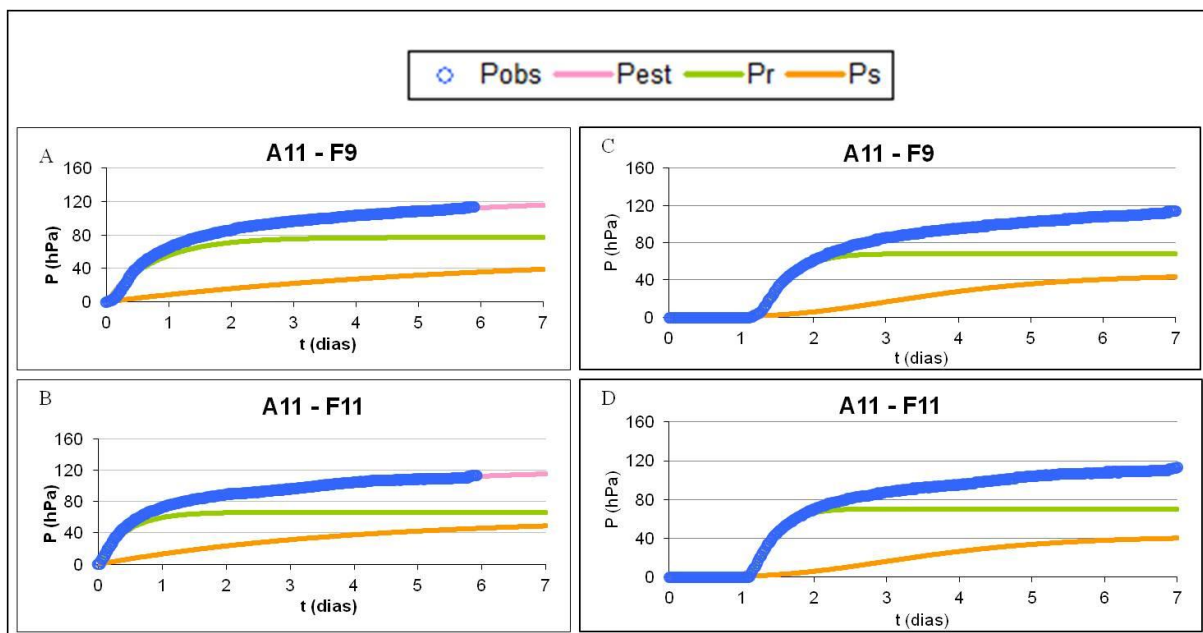


Figura II.1. Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1 a 3 da amostra 11



**Figura II.2.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 5, 7 e 8 da amostra 11



**Figura II.3.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 9 e 11 da amostra 11

**Quadro II.1.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 11

Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	303	1,63	77,40	0,21	54,94
2	1812	1,69	49,45	0,17	108,01
3	990	1,28	76,93	0,16	58,02
5	236	2,29	66,25	0,25	59,04
7	162	3,00	46,55	0,37	91,54
8	1812	1,69	49,45	0,17	108,01
9	990	1,28	76,93	0,16	58,02
11	236	2,29	66,25	0,25	59,04
<b>Média e desvio-padrão<sup>2</sup></b>		1,86±0,56	63,58±12,51	0,22±0,07	74,29±22,21

**Quadro II.2.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 11

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	413	0,97	3,89	70,54	1,33	0,78	45,86
2	367	0,97	4,14	59,59	1,68	0,63	63,87
3	563	1,19	3,49	68,06	1,62	0,70	45,98
5	530	1,09	4,13	70,44	1,55	0,72	42,32
7	391	1,49	4,94	61,24	1,83	0,80	65,77
8	367	0,97	4,14	59,59	1,68	0,63	63,87
9	563	1,19	3,49	68,06	1,62	0,70	45,98
11	530	1,09	4,13	70,44	1,55	0,72	42,32
<b>Média e desvio-padrão</b>		1,11±0,17	3,92±0,57	66,66±5,07	1,60±0,14	0,68±0,10	52,66±10,01

<sup>2</sup> A média e o desvio-padrão calculados referem-se aos parâmetros cinéticos estimados quer para cada frasco individualmente e quer para a curva média, expressos no capítulo de resultados.

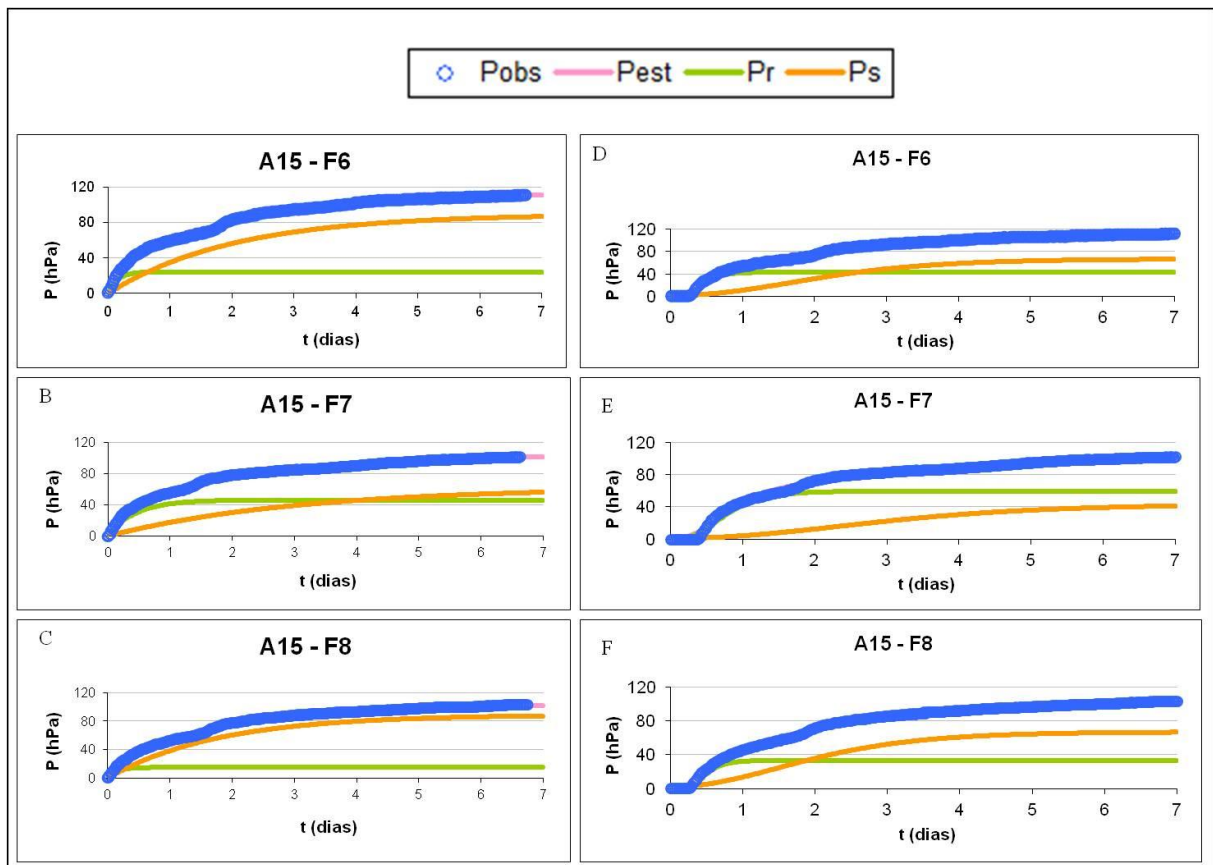


Figura II.4. Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 6 a 8 da amostra 15

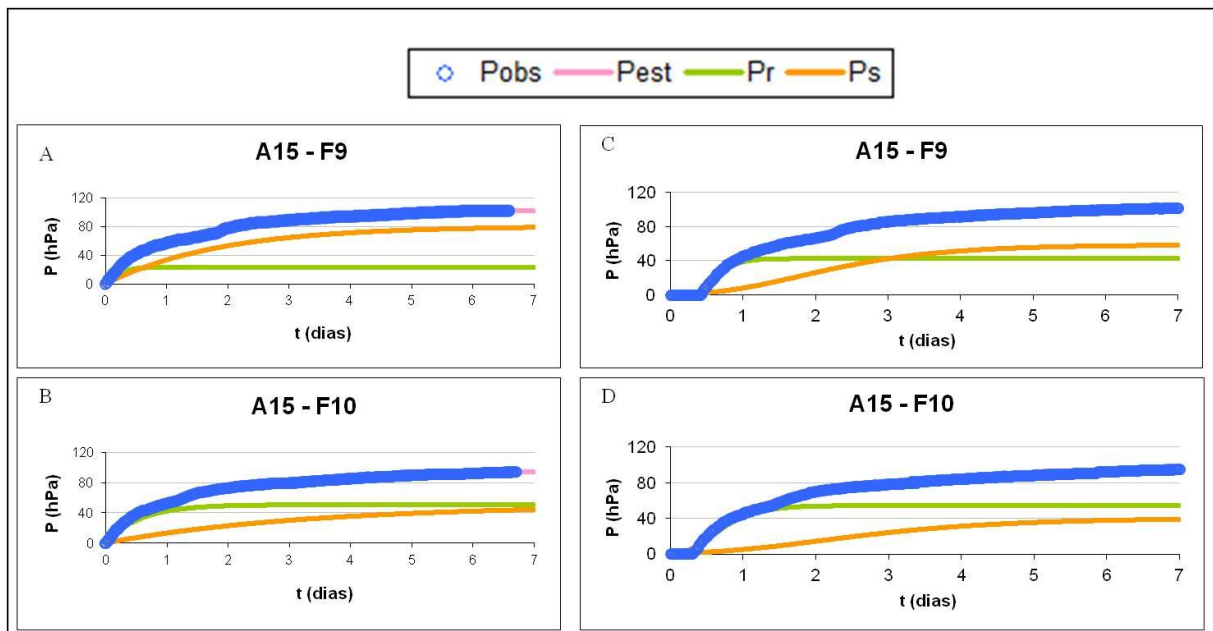


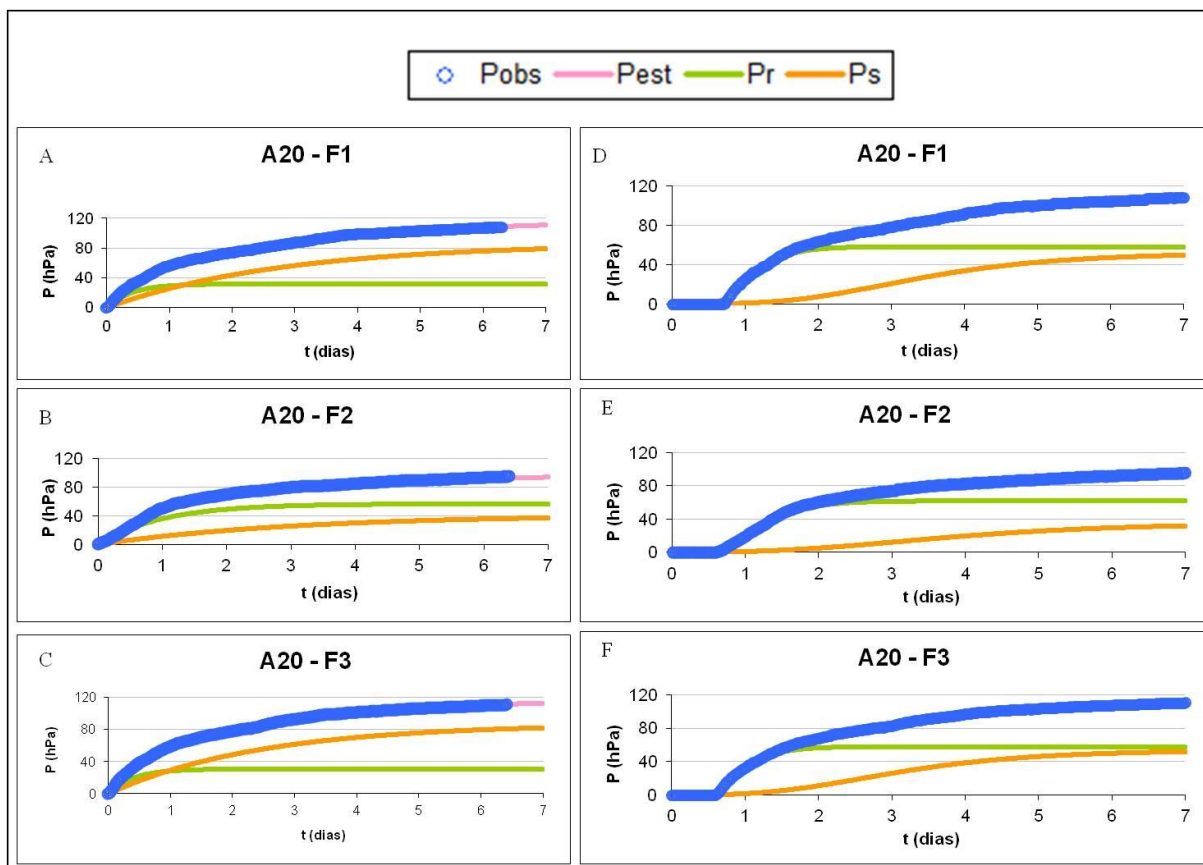
Figura II.5. Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 9 e 10 da amostra 15

**Quadro II.3.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 15

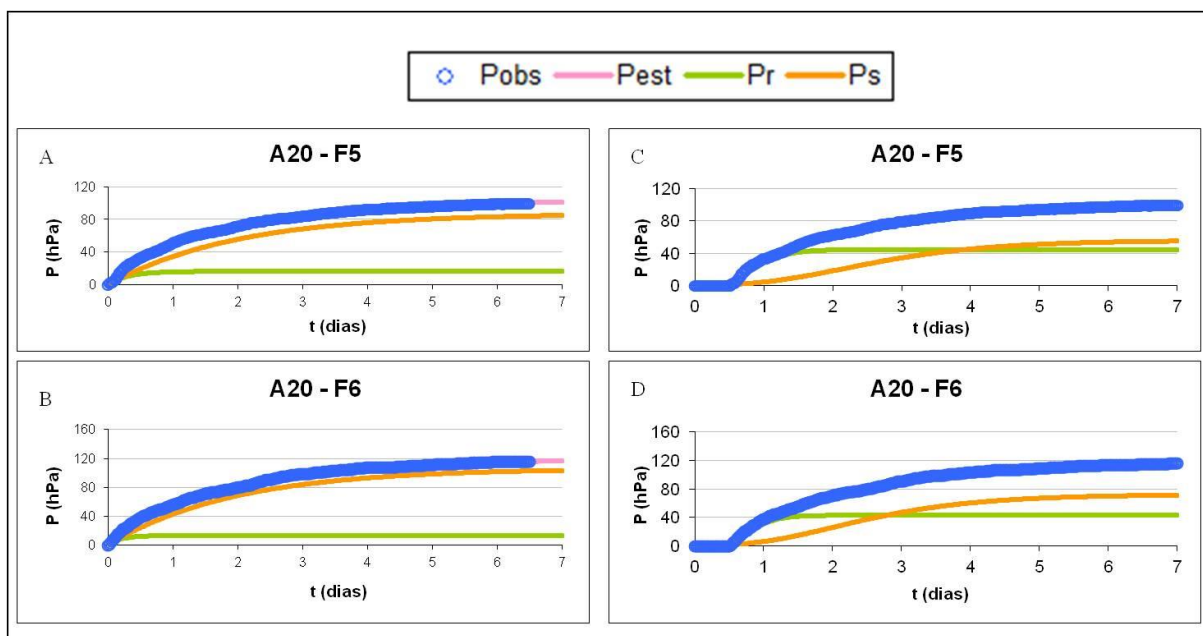
Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
6	806	6,49	24,36	0,50	89,55
7	926	2,26	46,09	0,33	62,40
8	719	6,76	14,63	0,56	88,92
9	536	4,74	23,46	0,54	80,45
10	355	1,79	50,67	0,30	50,45
<b>Média e desvio-padrão</b>		4,38±2,07	30,52±14,37	0,46±0,11	75,29±15,62

**Quadro II.4.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 15

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
6	801	0,26	6,73	42,79	0,52	0,87	66,69
7	1926	0,29	2,88	59,33	0,74	0,62	43,50
8	1137	0,27	6,34	33,20	0,42	0,93	67,09
9	622	0,43	5,90	42,21	0,67	0,91	58,37
10	1080	0,24	3,11	54,19	0,61	0,70	40,11
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,30±0,07	4,70±1,80	47,84±9,99	0,63±0,14	0,80±0,13	53,91±11,78



**Figura II.6.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1 a 3 da amostra 20



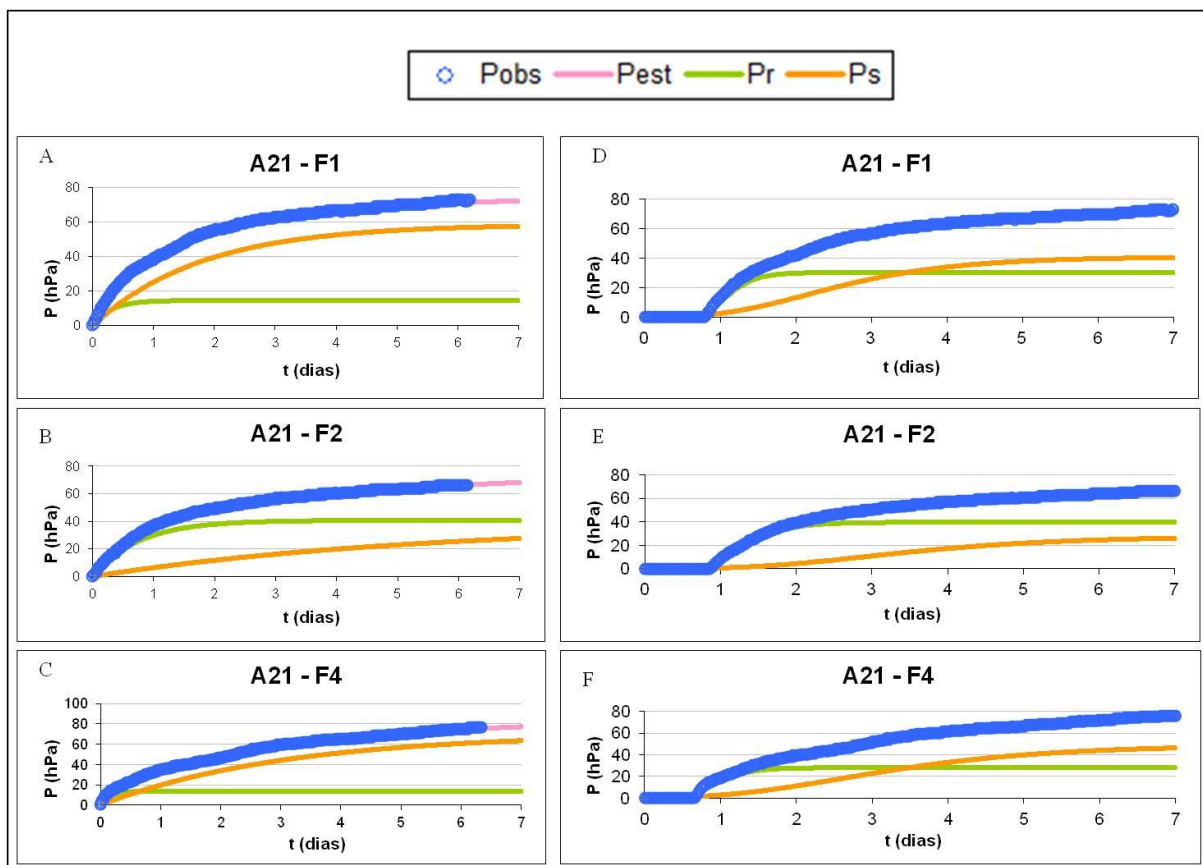
**Figura II.7.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 5 e 6 da amostra 20

**Quadro II.5.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 20

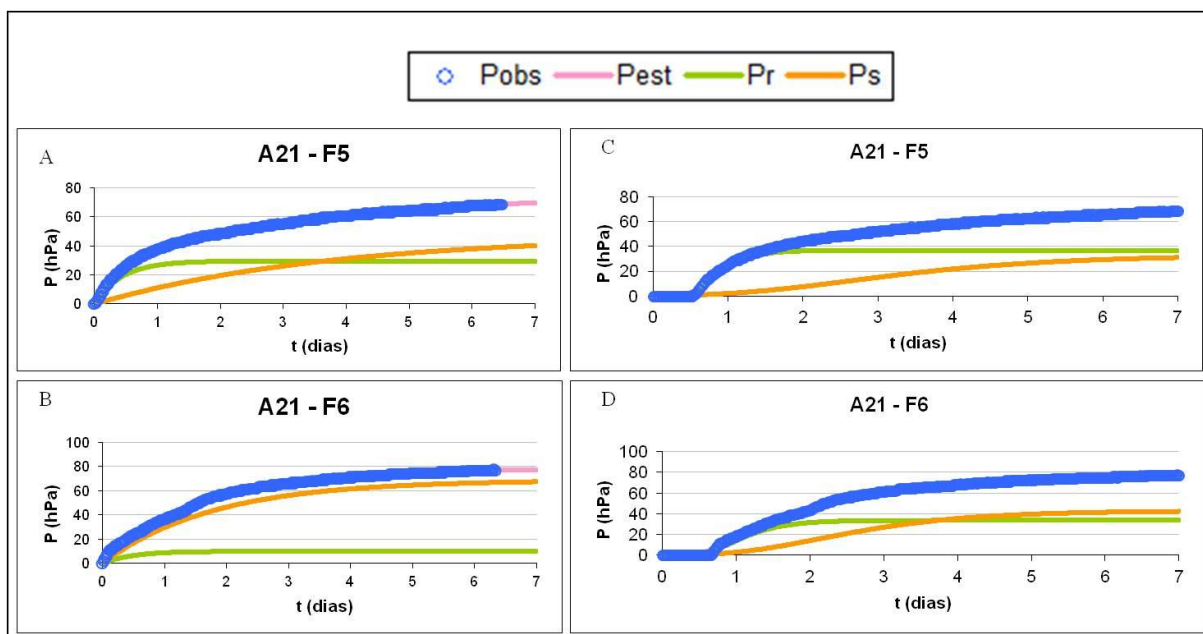
Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	364	2,50	31,85	0,36	86,25
2	1046	1,01	56,89	0,32	41,76
3	323	2,50	30,58	0,41	86,67
5	156	3,33	16,27	0,51	87,48
6	290	5,32	12,11	0,52	106,37
<b>Média e desvio-padrão</b>		2,70±1,52	31,88±16,36	0,39±0,09	80,32±21,63

**Quadro II.6.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 20

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	322	0,68	3,22	57,99	1,56	0,75	51,83
2	130	0,71	2,54	61,85	1,41	0,60	35,23
3	317	0,58	3,38	57,73	1,29	0,78	53,58
5	414	0,50	3,56	44,49	0,93	0,83	55,98
6	450	0,51	4,36	43,03	0,87	0,87	72,08
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,61±0,10	3,30±0,65	52,86±7,72	1,15±0,31	0,73±0,12	54,60±11,91



**Figura II.8.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1, 2 e 4 da amostra 21



**Figura II.9.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 5 e 6 da amostra 21

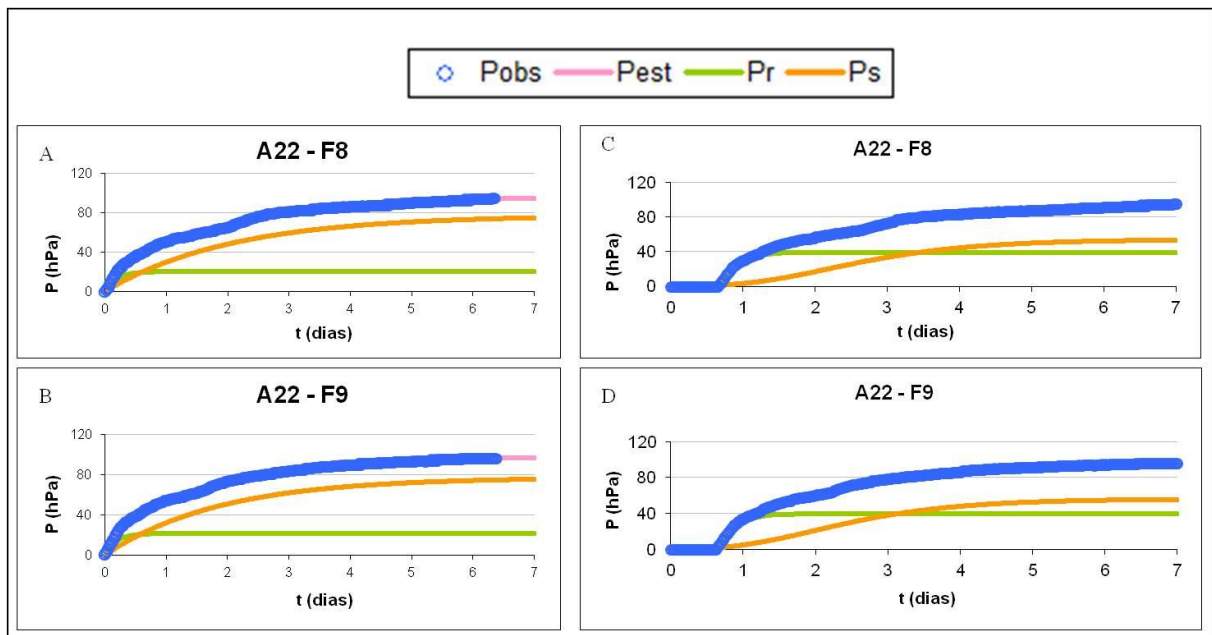


**Quadro II.7.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 21

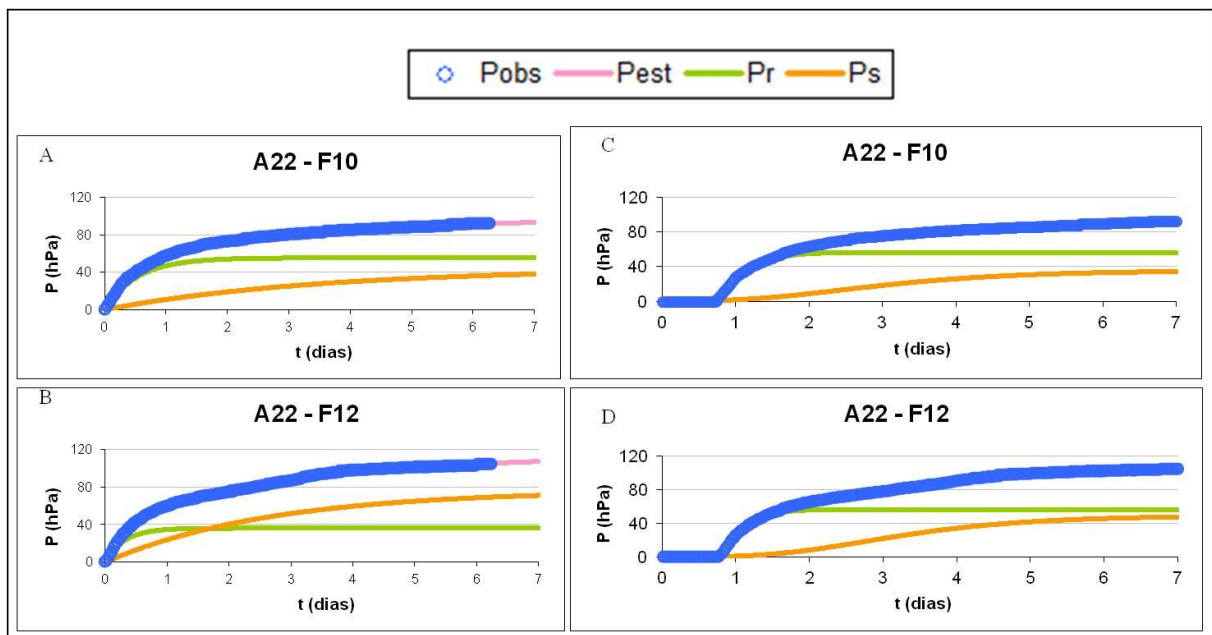
Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	156	3,37	14,58	0,56	58,79
2	45	1,33	40,68	0,18	37,98
4	229	6,31	13,66	0,33	70,62
5	59	2,33	29,63	0,27	47,74
6	395	2,17	10,05	0,57	68,77
<b>Média e desvio-padrão</b>		2,89±1,62	20,25±11,53	0,38±0,16	56,30±12,50

**Quadro II.8.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 21

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	393	0,79	4,25	30,28	1,03	0,90	40,92
2	167	0,84	2,79	39,55	1,44	0,68	27,63
4	464	0,60	3,78	27,97	1,08	0,66	48,85
5	221	0,51	3,60	36,83	1,03	0,63	33,02
6	538	0,57	2,60	33,64	0,98	0,88	42,91
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,69±0,14	3,33±0,64	33,89±4,25	1,12±0,17	0,74±0,12	38,54±7,50



**Figura II.10.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 8 e 9 da amostra 22



**Figura II.11.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 10 e 12 da amostra 22

**Quadro II.9.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 22

Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
8	564	5,23	20,16	0,49	77,58
9	202	5,39	21,48	0,54	77,36
10	81	1,87	55,41	0,28	44,22
12	513	3,24	36,10	0,37	76,73
<b>Média e desvio-padrão</b>		3,69±1,56	34,18±14,36	0,41±0,10	68,63±14,32

**Quadro II.10.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 22

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
8	548	0,64	5,51	39,27	1,04	0,89	54,11
9	370	0,63	5,90	39,40	0,88	0,91	56,12
10	542	0,70	3,53	56,38	1,10	0,75	35,44
12	321	0,75	4,30	56,43	1,48	0,80	49,08
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,70±0,06	4,60±1,05	47,75±8,54	1,04±0,29	0,79±0,13	49,90±8,51

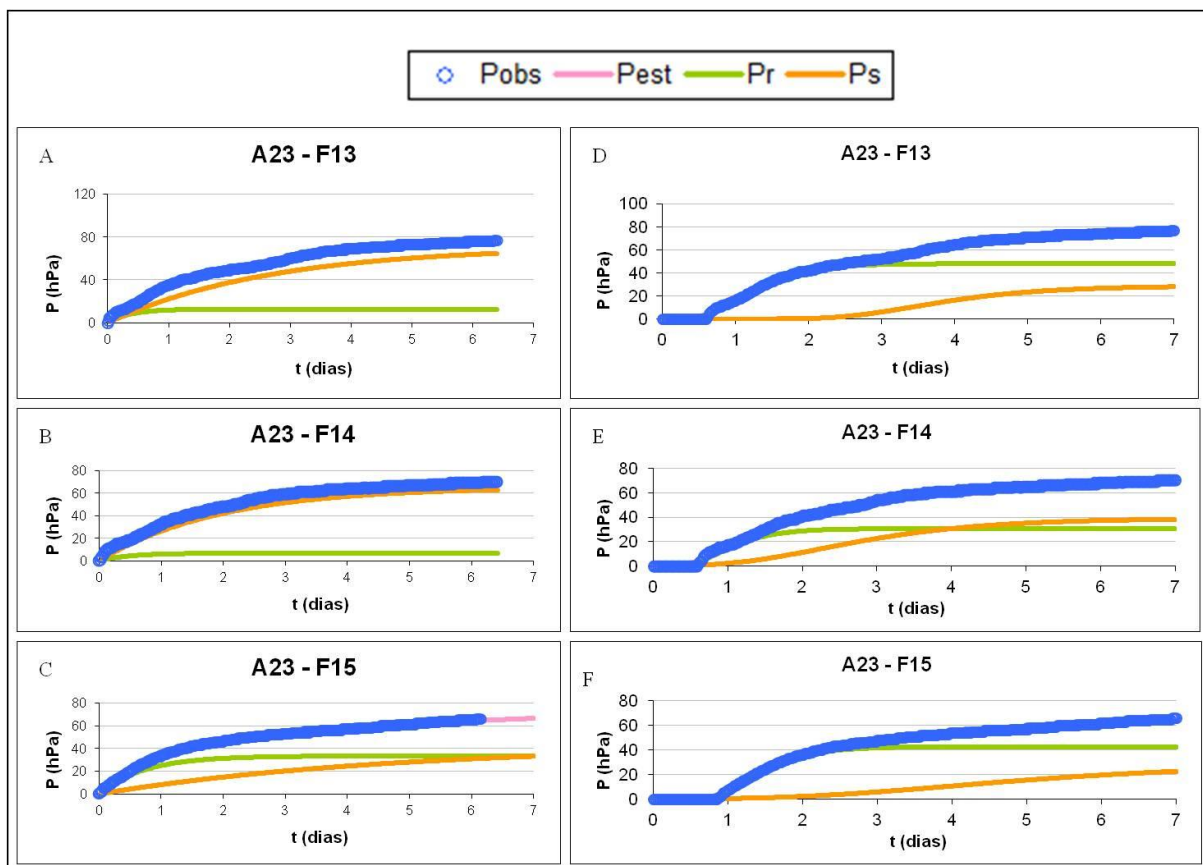


Figura II.12. Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 13 a 15 da amostra 23

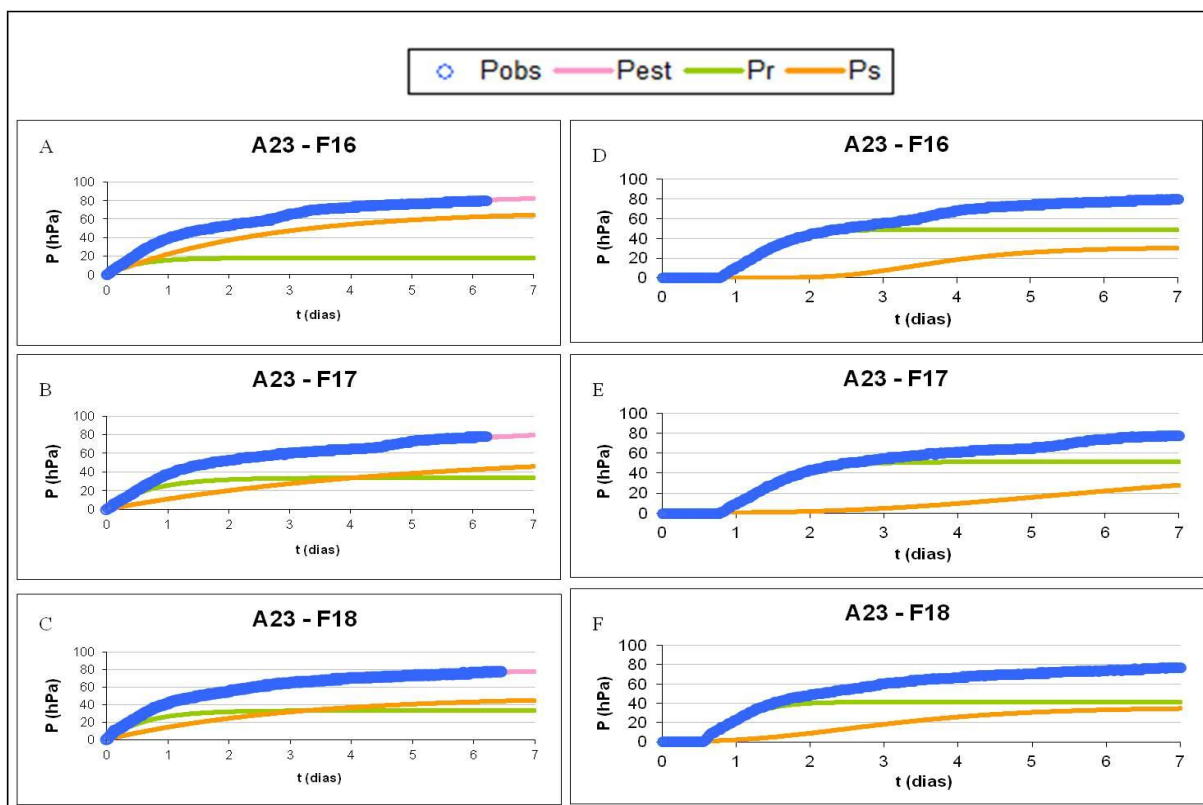


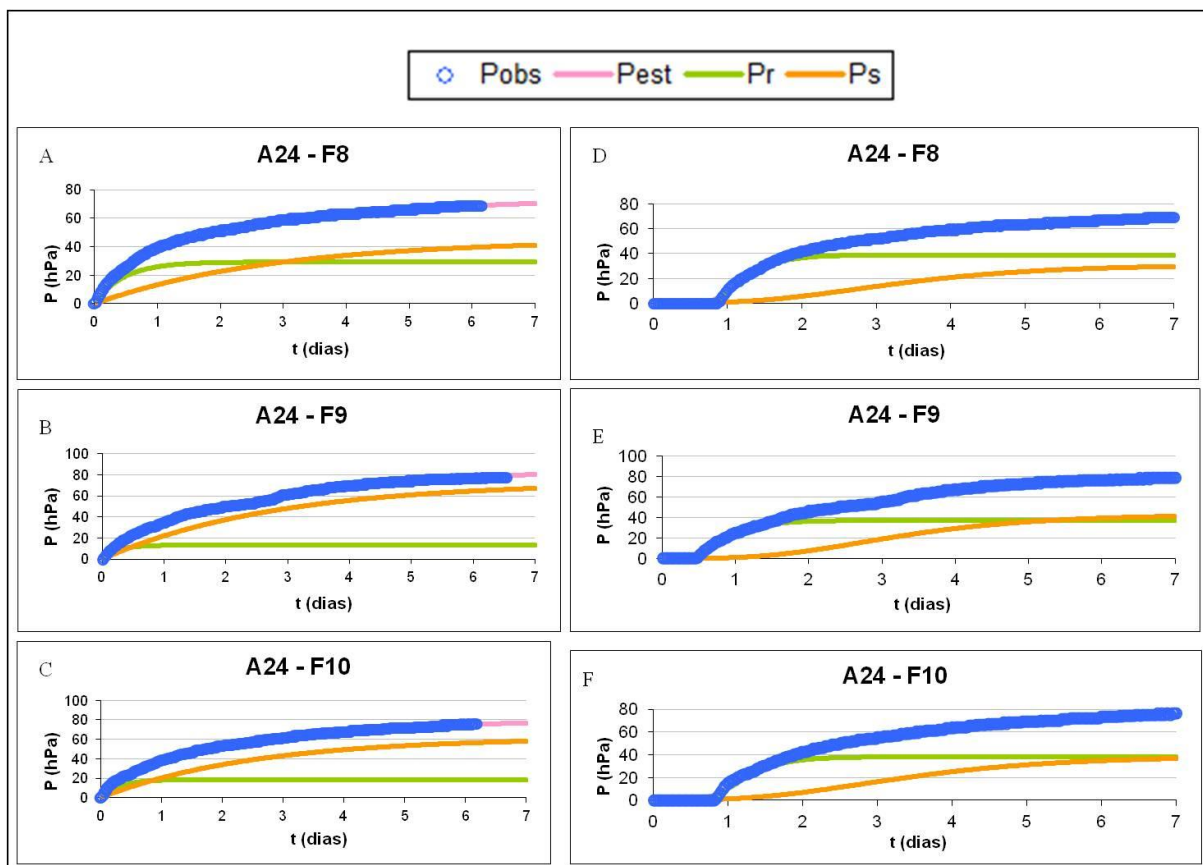
Figura II.13. Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 16 a 17 da amostra 23

**Quadro II.11.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 23

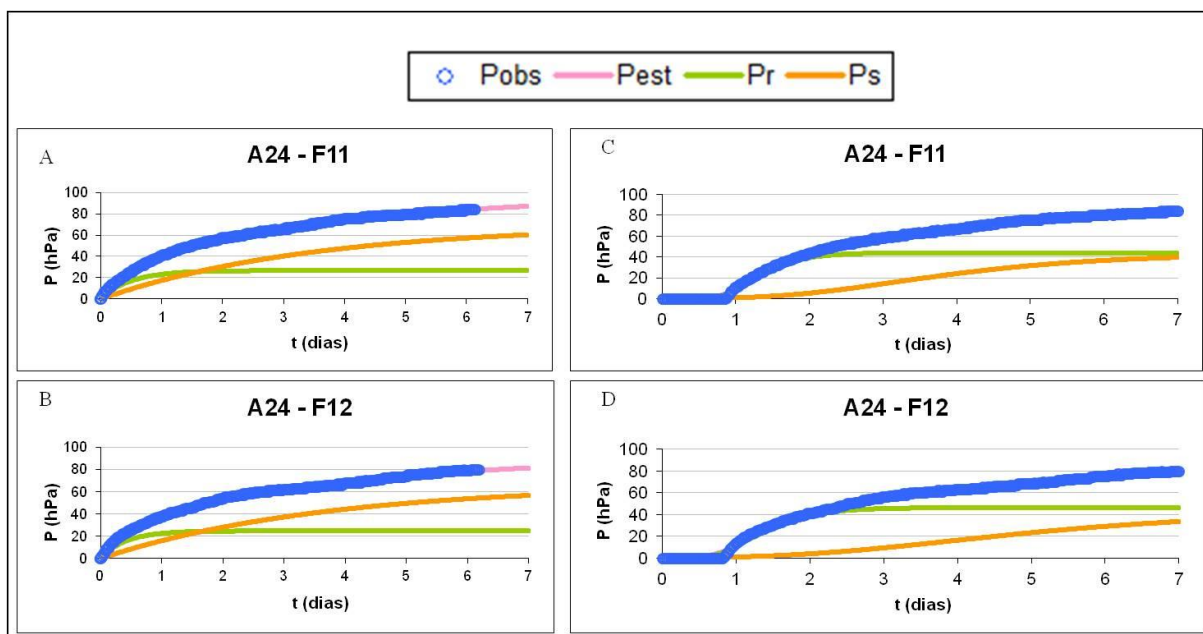
Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
13	455	2,65	12,62	0,37	71,31
14	275	2,12	6,67	0,52	65,28
15	150	1,38	33,40	0,21	42,82
16	506	2,02	17,89	0,39	68,87
17	841	1,43	33,67	0,20	60,78
18	116	1,59	32,94	0,34	49,42
<b>Média e desvio-padrão</b>		1,83±0,47	24,31±11,61	0,30±0,11	58,73±10,69

**Quadro II.12.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 23

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
13	226	0,57	2,11	47,87	2,45	1,01	28,63
14	328	0,50	2,52	30,58	1,05	0,82	38,99
15	177	0,84	2,24	42,59	1,88	0,48	28,57
16	173	0,81	2,64	48,94	2,39	1,03	30,82
17	280	0,81	2,15	51,33	2,58	0,37	47,09
18	207	0,54	3,02	41,31	1,07	0,72	35,81
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,70±0,16	2,45±0,32	43,25±6,99	1,83±0,66	0,71±0,26	35,47±6,74



**Figura II.14.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 8 a 10 da amostra 24



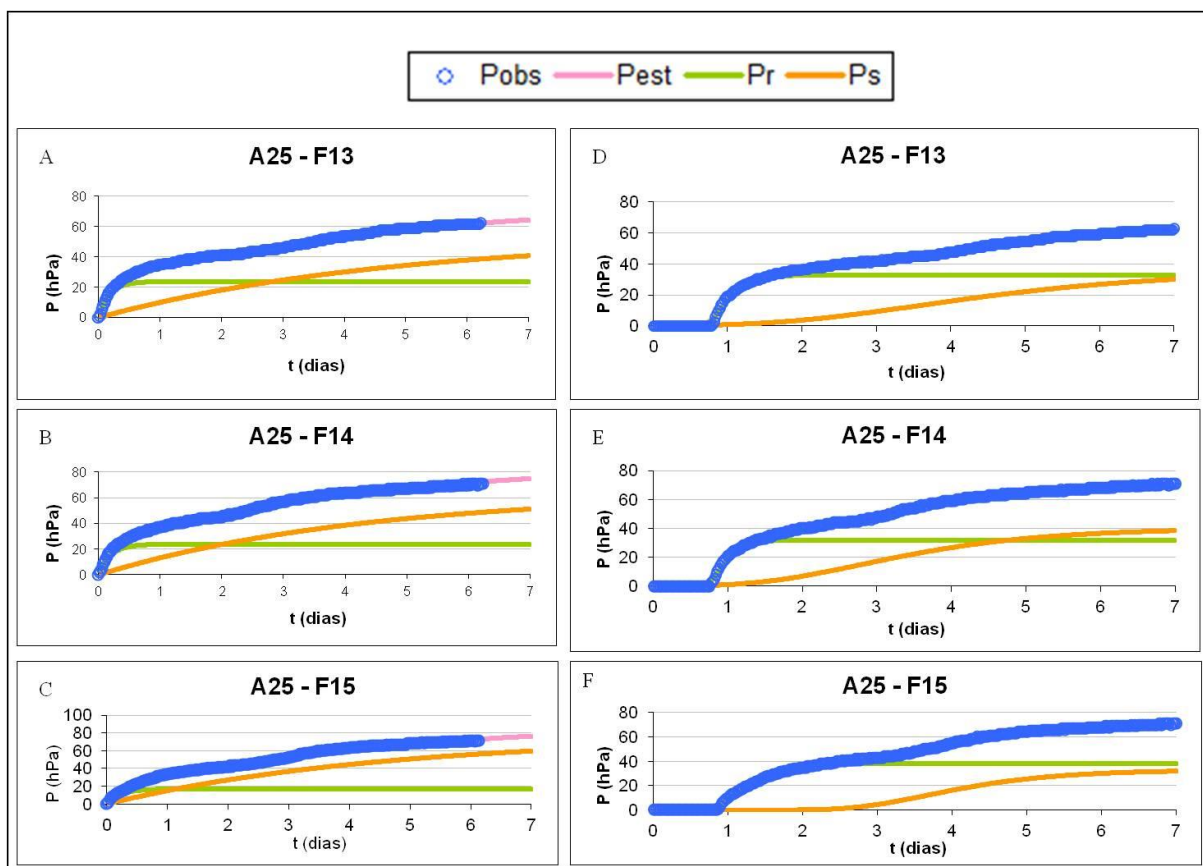
**Figura II.15.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 11 e 12 da amostra 24

**Quadro II.13.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 24

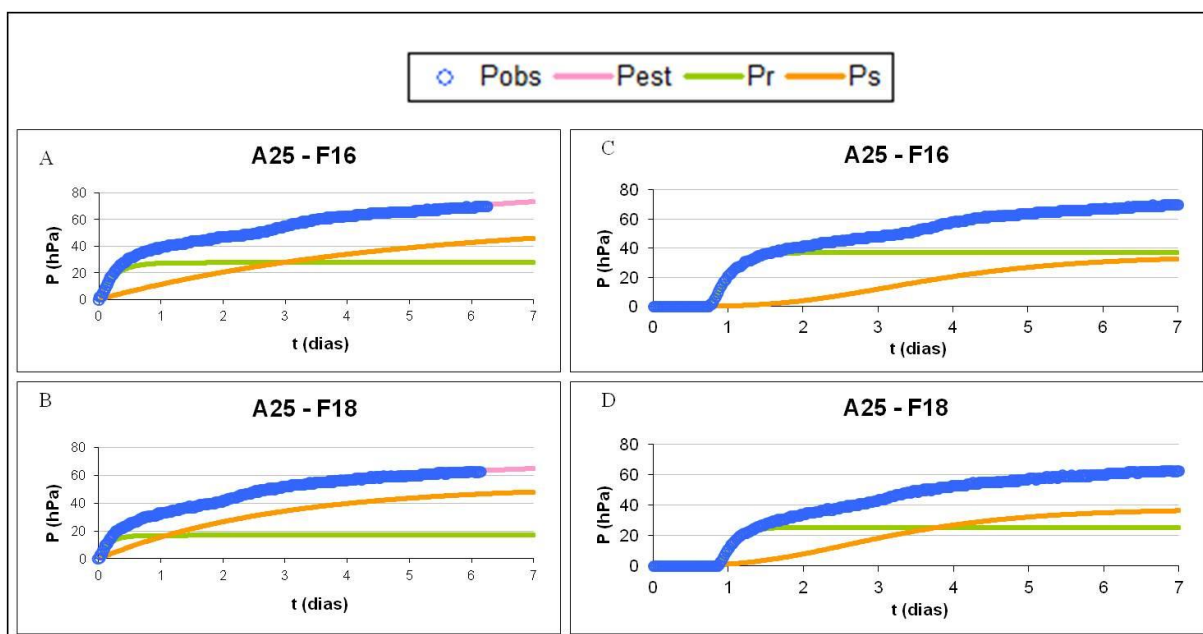
<b>Frasco</b>	<b>SQR</b>	<b><math>k_r</math> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>P_r</math> (hPa)</b>	<b><math>k_s</math> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>P_s</math> (hPa)</b>
8	66	2,16	29,25	0,35	45,04
9	342	4,04	13,22	0,36	73,07
10	125	3,15	18,82	0,40	61,85
11	132	2,02	26,70	0,29	69,49
12	381	2,40	24,63	0,27	66,24
<b>Média e desvio-padrão</b>		2,70±0,77	22,65±5,79	0,32±0,05	63,08±9,78

**Quadro II.14.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 24

<b>Frasco</b>	<b>SQR</b>	<b><i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)</b>	<b><math>k_r</math> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>P_r</math> (hPa)</b>	<b><i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)</b>	<b><math>k_s</math> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>P_s</math> (hPa)</b>
8	244	0,82	3,27	38,67	1,35	0,72	30,98
9	283	0,42	3,07	37,01	1,40	0,76	42,74
10	388	0,75	2,90	38,14	1,33	0,69	38,83
11	281	0,81	2,67	44,02	1,60	0,64	43,18
12	730	0,72	2,17	46,19	1,74	0,46	42,48
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,72±0,15	2,78±0,39	40,64±3,64	1,45±0,18	0,63±0,11	40,23±4,82



**Figura II.16.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 13 a 15 da amostra 25



**Figura II.17.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 16 e 18 da amostra 25

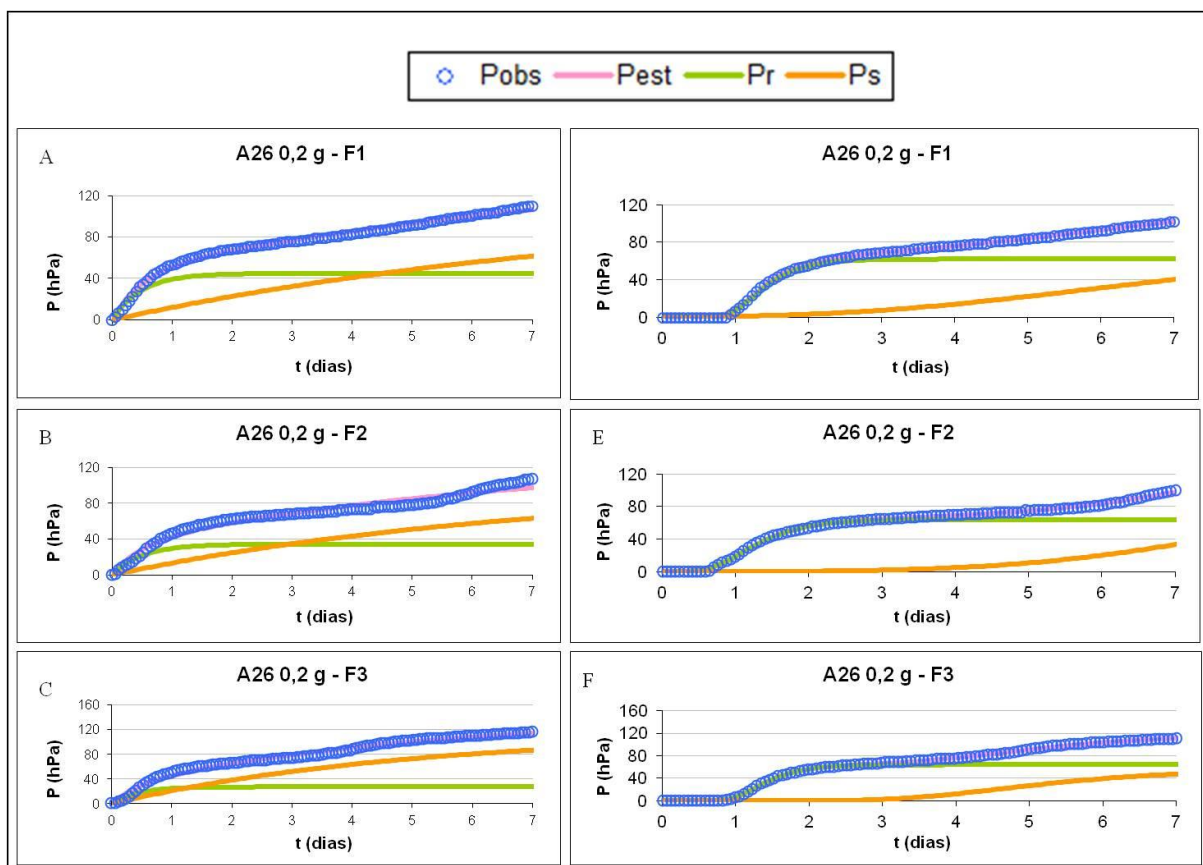


**Quadro II.15.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 25

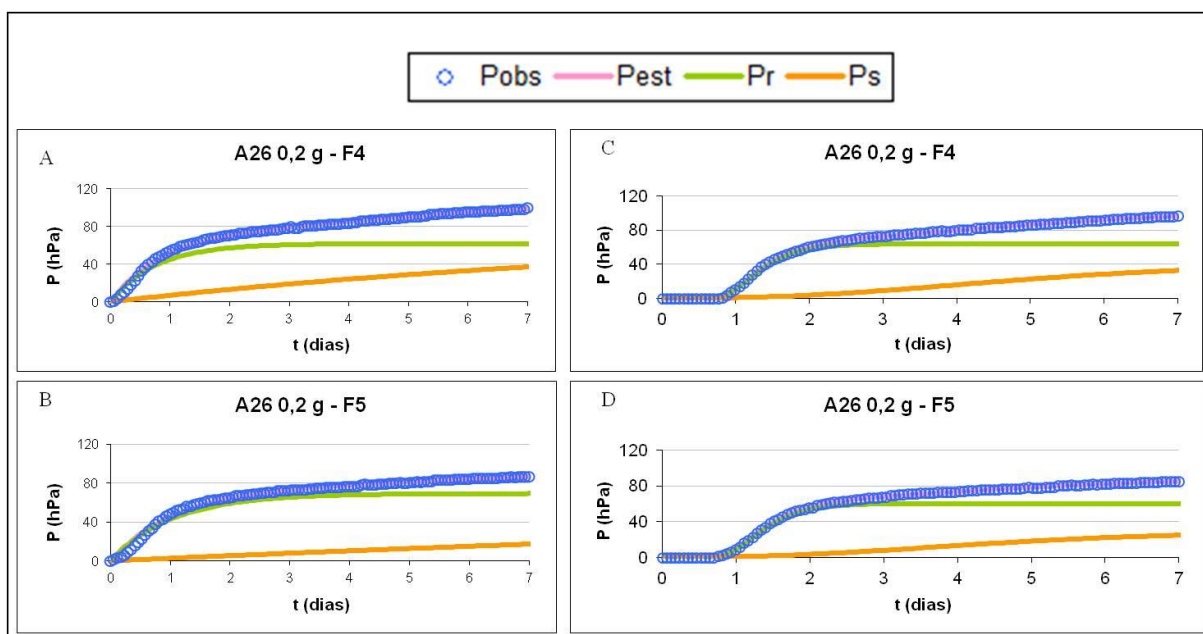
Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
13	381	5,62	23,66	0,21	53,02
14	433	5,15	23,77	0,23	63,73
15	755	4,46	16,81	0,22	75,58
16	472	4,13	27,54	0,21	59,65
18	199	6,08	16,77	0,35	52,48
<b>Média e desvio-padrão</b>		5,04±0,73	21,80±4,26	0,24±0,05	60,87±8,46

**Quadro II.16.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 25

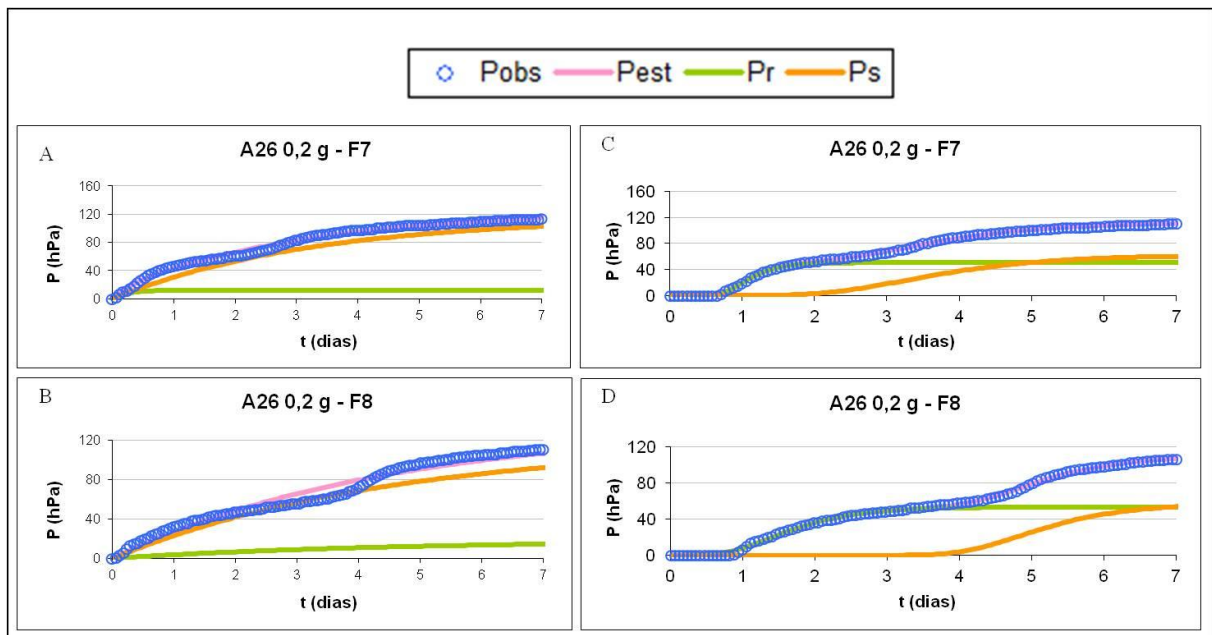
Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
13	256	0,74	5,27	32,73	1,65	0,52	35,57
14	243	0,74	6,08	31,89	1,41	0,73	40,17
15	231	0,79	2,88	38,50	2,69	1,02	32,98
16	221	0,74	5,52	36,96	1,68	0,71	34,87
18	162	0,86	6,68	25,55	1,26	0,77	37,67
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,79±0,06	5,33±1,30	32,43±4,84	1,64±0,55	0,72±0,18	37,55±4,03



**Figura II.18.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1 a 3 da amostra 26



**Figura II.19.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 4 e 5 da amostra 26



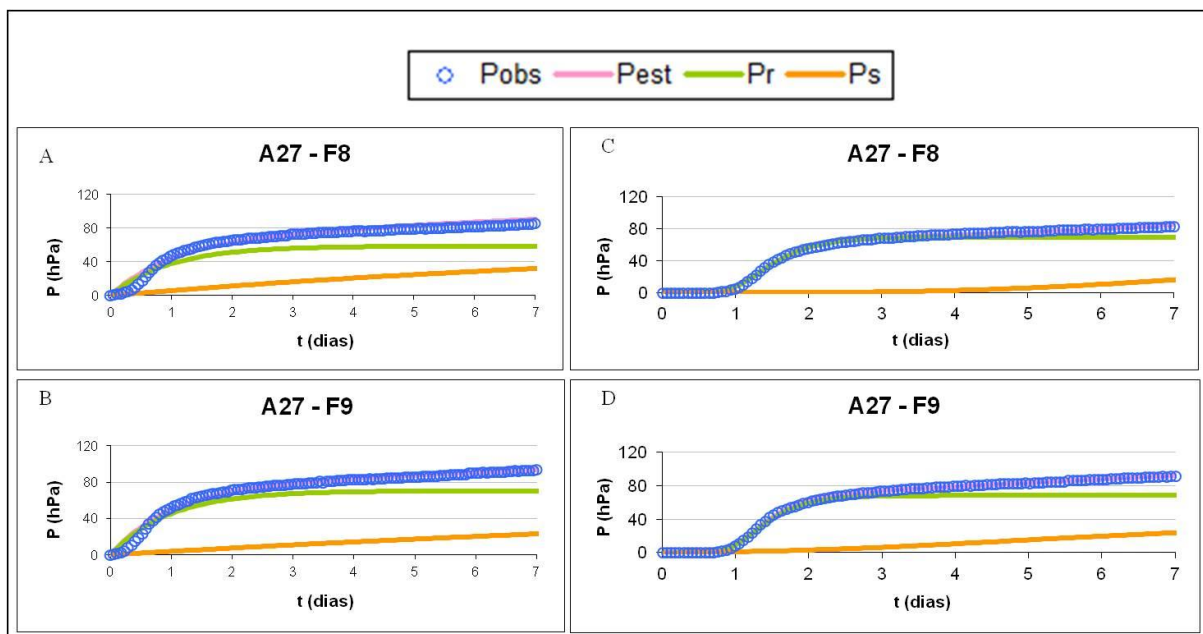
**Figura II.20.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 7 e 8 da amostra 26

**Quadro II.17.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 26

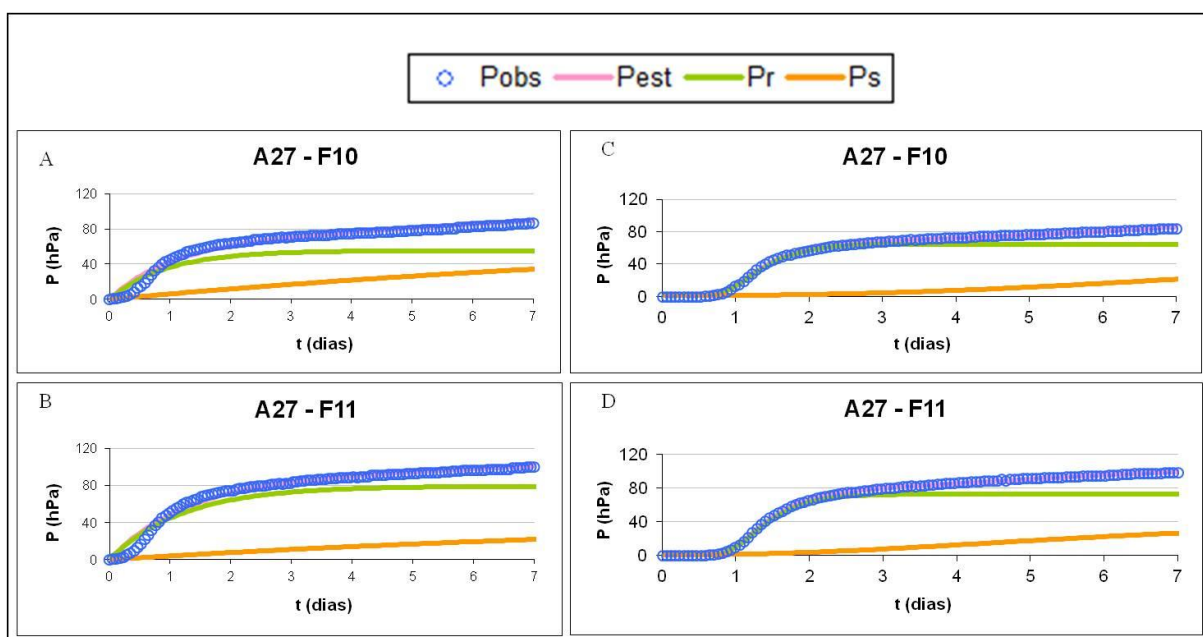
Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	597	2,05	44,82	0,11	114,67
2	3301	1,96	34,23	0,14	100,77
3	1704	2,34	27,10	0,20	113,90
4	412	1,30	61,85	0,10	76,33
5	663	0,96	69,22	0,03	80,70
7	934	3,94	12,46	0,31	115,74
8	4633	0,22	18,36	0,22	116,57
<b>Média e desvio-padrão</b>		1,82±1,09	37,91±19,89	0,16±0,09	102,92±16,11

**Quadro II.18.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 26

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
1	130	0,91	2,81	62,05	2,60	0,31	81,34
2	281	0,61	1,97	67,15	4,83	0,46	84,84
3	174	0,93	2,91	63,96	3,19	0,72	56,32
4	97	0,85	2,91	63,69	1,70	0,45	42,36
5	44	0,87	2,75	60,27	1,53	0,49	30,09
7	205	0,70	3,54	50,52	2,12	0,89	62,53
8	299	0,78	1,60	53,32	4,00	1,21	57,83
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,81±0,11	2,58±0,63	59,91±5,63	2,79±1,15	0,61±0,31	60,88±17,21



**Figura II.21.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 8 e 9 da amostra 27



**Figura II.22.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 10 e 11 da amostra 27

**Quadro II.19.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da amostra 27

<b>Frasco</b>	<b>SQR</b>	<b>k<sub>r</sub> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b>P<sub>r</sub> (hPa)</b>	<b>k<sub>s</sub> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b>P<sub>s</sub> (hPa)</b>
8	4020	1,04	58,64	0,09	66,44
9	1150	1,03	70,53	0,06	69,47
10	2344	1,07	55,35	0,08	81,85
11	2074	0,83	79,29	0,08	49,51
<b>Média e desvio-padrão</b>		1,00±0,10	65,30±9,66	0,08±0,01	66,64±11,55

**Quadro II.20.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da amostra 27

<b>Frasco</b>	<b>SQR</b>	<b>Lag phase<sub>r</sub> (d)</b>	<b>k<sub>r</sub> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b>P<sub>r</sub> (hPa)</b>	<b>Lag phase<sub>s</sub> (d)</b>	<b>k<sub>s</sub> (d<sup>-1</sup>)</b>	<b>P<sub>s</sub> (hPa)</b>
8	885	0,92	2,38	69,48	4,45	0,28	60,52
9	149	0,89	2,68	68,07	1,73	0,34	37,00
10	230	0,79	2,53	64,68	3,15	0,21	72,29
11	159	0,87	2,59	72,68	1,55	0,36	39,02
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,83±0,09	2,37±0,41	70,23±4,42	3,07±1,41	0,29±0,06	52,52±14,83

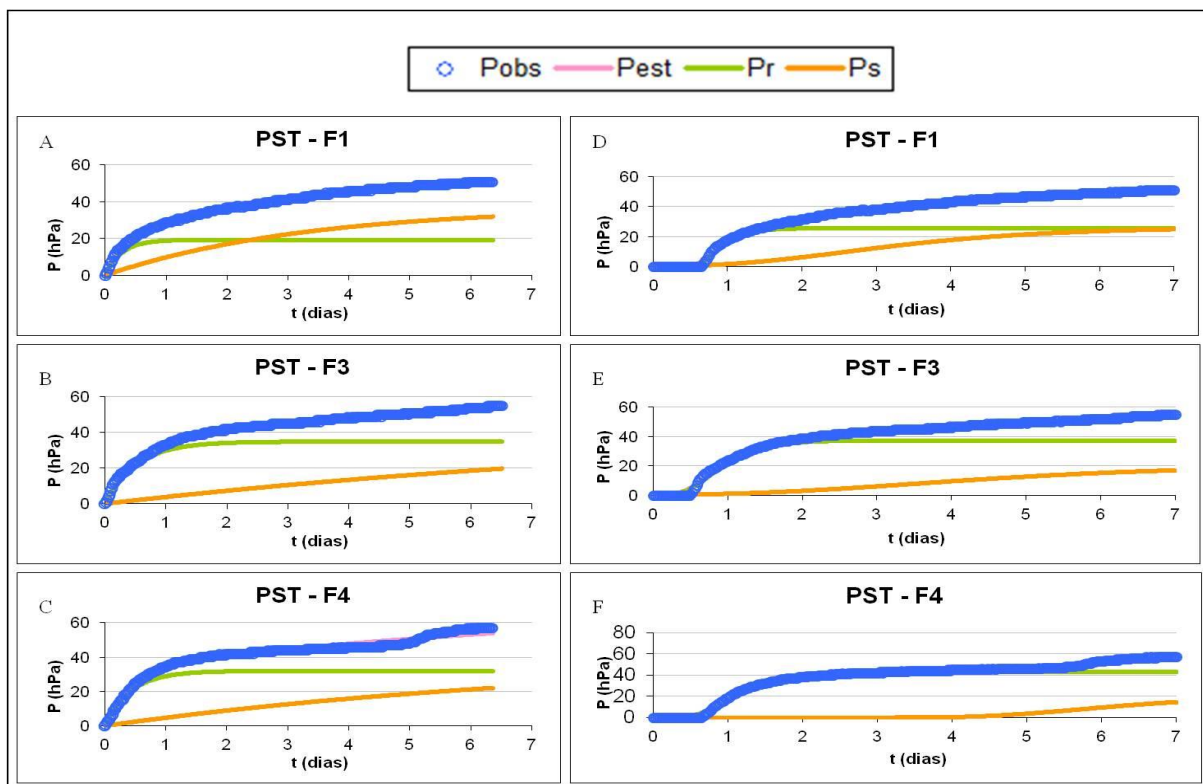


Figura II.23. Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 1, 3 e 4 da PST

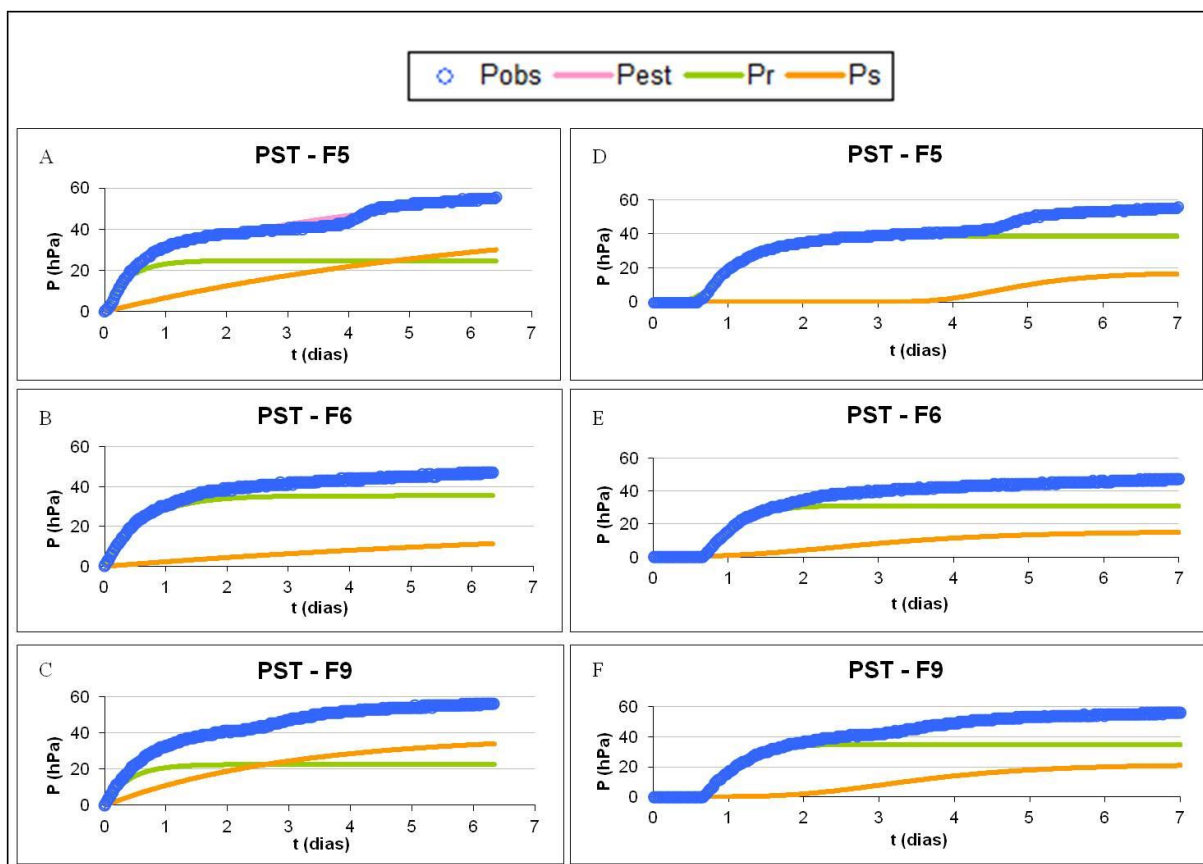


Figura II.24. Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 5, 6 e 9 da PST

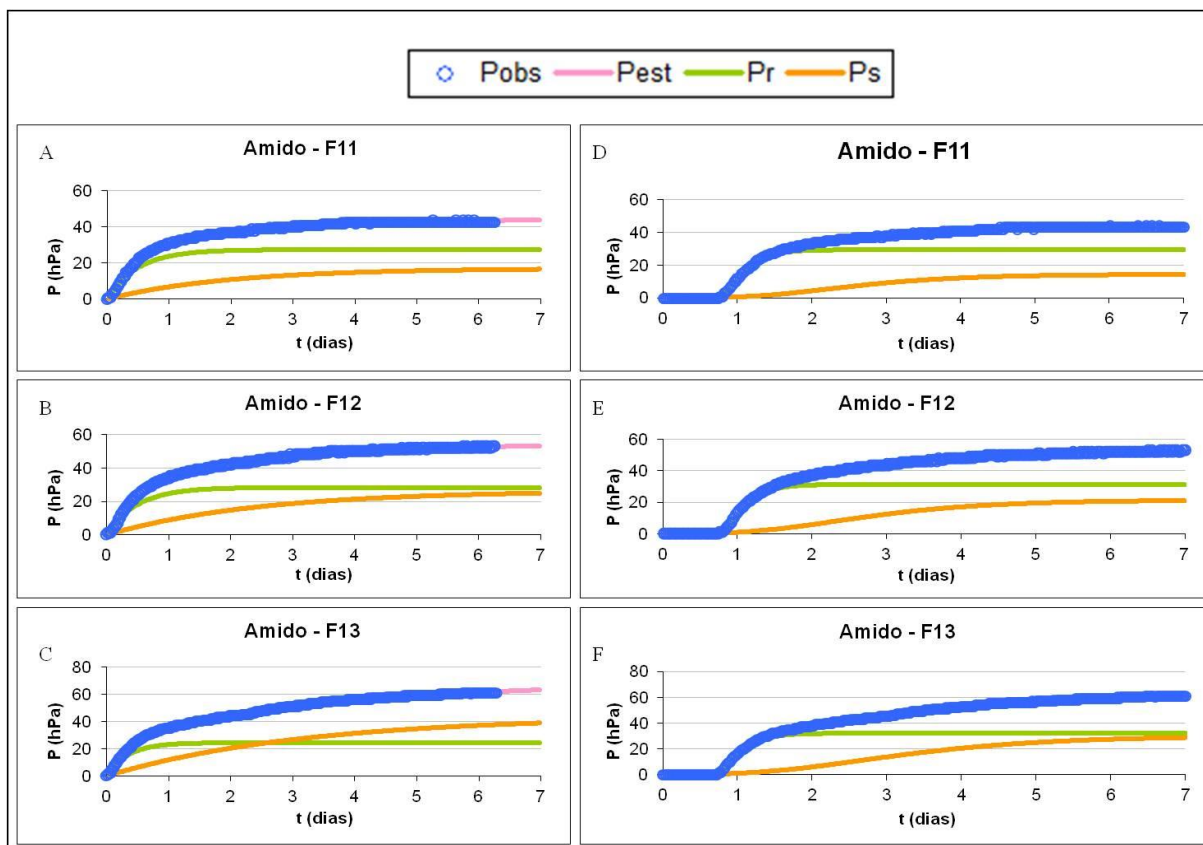
**Quadro II.21.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial da PST

Frasco	SQR	$k_r$ ( $d^{-1}$ )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ ( $d^{-1}$ )	$P_s$ (hPa)
1	52	3,71	19,25	0,30	37,20
3	103	1,94	34,86	0,09	45,06
4	1126	2,36	31,94	0,13	39,84
5	1093	2,71	24,78	0,15	49,17
6	53	1,62	35,45	0,10	24,14
9	210	2,56	22,59	0,33	38,70
<b>Média e desvio-padrão</b>		2,43±0,68	28,49±6,31	0,17±0,10	39,65±7,98

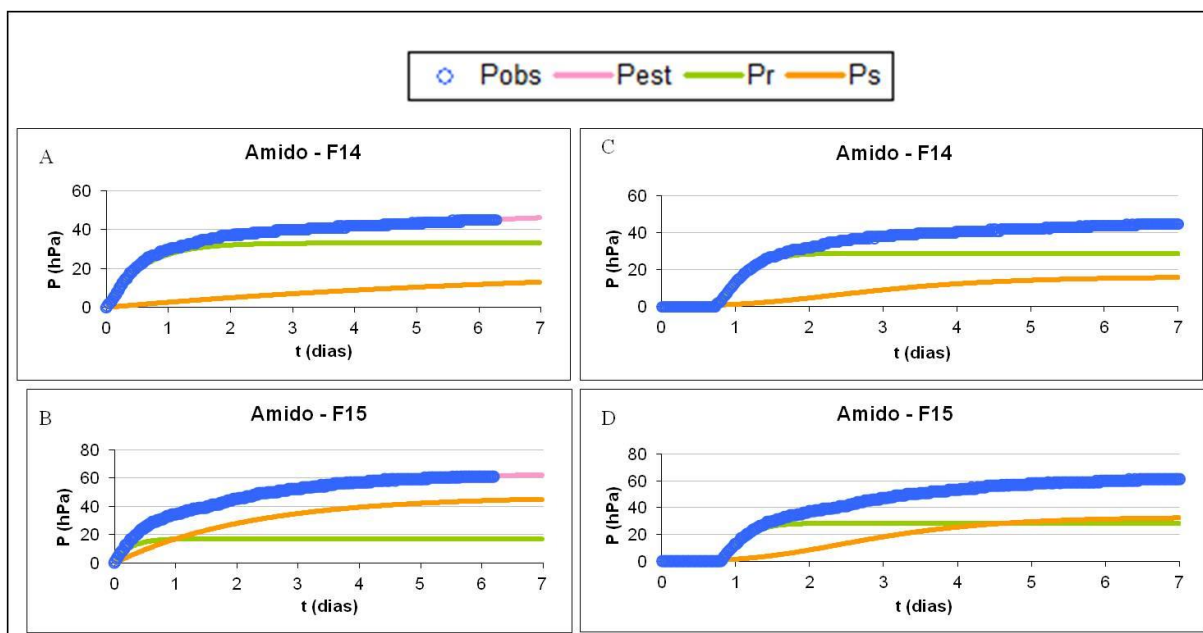
**Quadro II.22.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz da PST

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ ( $d^{-1}$ )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ ( $d^{-1}$ )	$P_s$ (hPa)
1	194	0,60	4,35	25,57	1,02	0,65	26,33
3	320	0,41	2,81	37,27	1,30	0,46	20,57
4	530	0,58	2,52	42,85	4,43	0,80	20,77
5	379	0,55	2,68	38,54	3,79	1,33	17,23
6	174	0,65	3,44	31,06	1,02	0,74	15,48
9	126	0,65	3,46	34,93	1,84	0,84	21,63
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,58±0,08	3,14±0,65	34,86±5,55	2,08±1,43	0,73±0,34	22,89±7,58

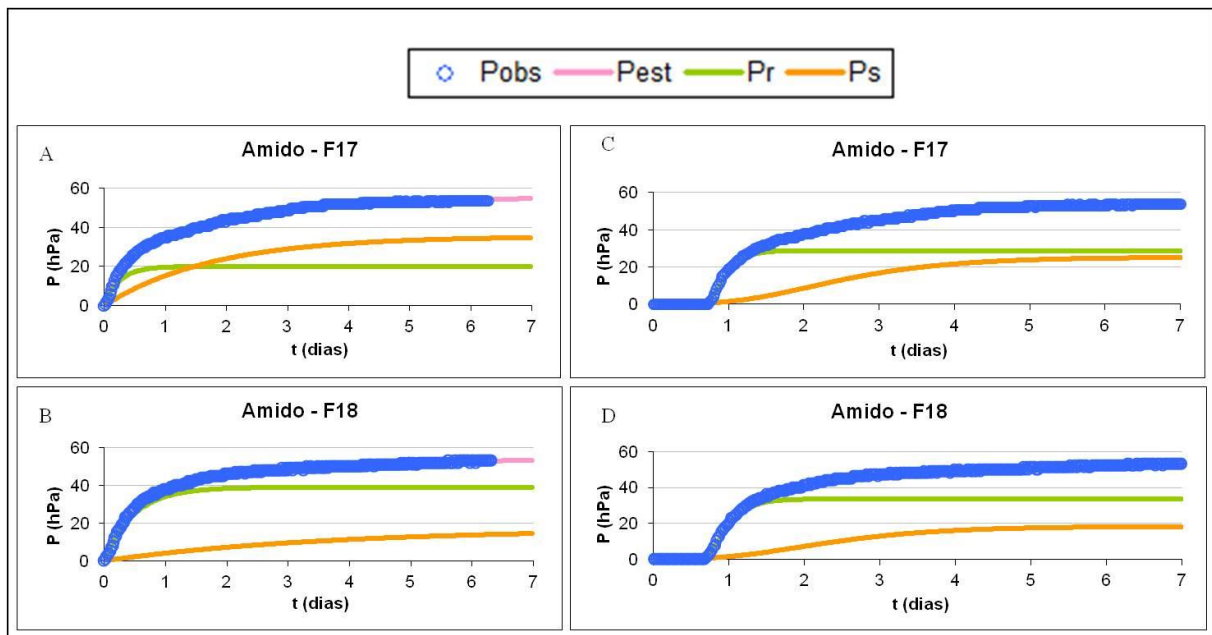




**Figura II.25.** Ajuste dos modelos exponencial (A, B e C) e de Gompertz (D, E e F) aos resultados dos frascos 11 a 13 do Amido



**Figura II.26.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 14 e 15 do Amido



**Figura II.27.** Ajuste dos modelos exponencial (A e B) e de Gompertz (C e D) aos resultados dos frascos 17 e 18 do Amido

**Quadro II.23.** Parâmetros estimados para o modelo exponencial do Amido

Frasco	SQR	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
11	157	2,01	27,36	0,50	17,01
12	176	2,05	28,41	0,41	26,51
13	149	2,91	24,24	0,31	43,60
14	62	1,75	33,06	0,13	21,74
15	87	4,01	17,26	0,45	47,10
17	108	4,04	19,98	0,57	35,51
18	96	2,08	38,98	0,28	16,94
<b>Média e desvio-padrão</b>		2,67±0,91	26,83±6,93	0,38±0,14	29,77±11,51

**Quadro II.24.** Parâmetros estimados para o modelo de Gompertz do Amido

Frasco	SQR	<i>Lag phase<sub>r</sub></i> (d)	$k_r$ (d <sup>-1</sup> )	$P_r$ (hPa)	<i>Lag phase<sub>s</sub></i> (d)	$k_s$ (d <sup>-1</sup> )	$P_s$ (hPa)
11	65	0,78	4,57	29,17	1,20	0,99	14,28
12	86	0,79	4,66	31,21	1,16	0,87	21,38
13	87	0,74	4,70	32,03	1,26	0,72	30,11
14	140	0,73	4,01	28,74	1,02	0,77	16,00
15	98	0,80	5,04	28,31	1,17	0,83	33,07
17	101	0,73	6,01	28,81	1,04	0,97	25,29
18	187	0,70	4,99	33,59	0,88	0,97	18,48
<b>Média e desvio-padrão</b>		0,76±0,04	4,85±0,57	30,19±1,88	1,10±0,12	0,87±0,10	22,72±6,60