Universidade de Aveiro Departamento de Ambiente e Ordenamento
2012

NÚRIA SOFIA SILVA FARIAS

Acidogénese anaeróbia de lamas DAF na produção de biopolimeros

Universidade de Aveiro Departamento de Ambiente e Ordenamento
2012

NÚRIA SOFIA SILVA FARIAS

Acidogénese anaeróbia de lamas DAF na produção de biopolimeros

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

Dedico este trabalho aos meus pais,
à minha irmã e ao meu namorado.

o júri

presidente

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

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

Prof. Doutora Ana Maria Garcia Henriques Barreiros Joanaz de Melo
professor Adjunta do Deapartamento de Engenharia Quimica- Instituto Superior de Engenharia de Lisboa

agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Helena Nadais pela sua disponibilidade, sugestões concedidas ao longo da elaboração desta tese e pelo grande apoio dado em todas as ocasiões.

Agradeço também a todos os que partilharam comigo o laboratório do DAO, o Pompílio pelas orientações dadas e á Fátima e á Tânia, um muito obrigado pelo conhecimento transmitido e apoio dados durante e aquando o terminio dos ensaios.

Um especial agradecimento á minha família, em especial aos meus pais que me proporcionaram a possibilidade de frequentar o ensino superior e assim ir mais além dos meus horizontes. Um obrigado pelo apoio demonstrado agora e sempre.

Agradeço também ao meu namorado Luís Pinto, pela compreensão das minhas infindáveis horas de ausencia, pelo grande apoio, confiança em mim depositada e por sempre me fazer acreditar em mim. Uma vez mais o meu muito obrigado.

Um grande obrigado á minha amiga Marta Caramelo, por mais uma vez ser minha companheira em uma nova etapa da minha/nossa vida. Agradeço teres estado presente e tornares o difícil mais fácil. Sempre.

Agradeço a toda a minha equipa Pepe Jeans do Fórum Aveiro pelo incentivo dado, continua boa disposição e companheirismo demonstrados. Em especial á minha gerente Bruna Silva pela compreensão e apoio dados.

Também quero agradecer á minha prima Sandra Ribeiro e á minha amiga Claúdia Pinho que sempre acreditaram em mim e que esperam que esta dissertação termine para me verem. Obrigado e até já.

palavras-chave acidogénese, digestão anaeróbia, lamas DAF, ácidos orgânicos voláteis, biopolímeros

resumo

A procura e adoção de medidas ambientalmente corretas que inviabilizem a deposição de resíduos orgânicos industriais em aterro a par da investigação orientada para a valorização dos mesmos constituem a temática na qual este trabalho se enquadra.

O principal objetivo deste trabalho foi a avaliação da acidogénese de um efluente de lamas gordas de uma indústria de laticínios (lamas DAF), como forma de produção de ácidos orgânicos voláteis (AOV's) os quais poderão servir como substrato para a produção de biopolímeros.

Neste trabalho estudou-se a influência dos parâmetros alcalinidade e razão F/M para a mesma temperatura de operação – mesofilica (37ºC). Esta análise foi realizada durante 3 ensaios com recurso a 3 reatores descontínuos anaeróbios por cada ensaio. Os ensaios foram executados sem controlo de pH, com variações da razão F/M (8, 14 e 20) entre ensaios e variação da alcalinidade pretendida (alcalinidade nula, 2 g CaCO3 /L e 4g CaCO3 /L) entre reatores.

A alcalinidade e carga orgânicas elevadas favoreceram a produção de AOVs em ambos os ensaios. A produção máxima de AOVs foi obtida para F/M=20, apresentando uma concentração total de AOVs de 11781 mgAAc/L no inicio do ensaio (0h).

Os AOV's predominantes nos ensaios foram os ácidos n-butírico, propiónico e acético.

Para a globalidade dos ensaios, nos dias de maior produção de TAOV's as percentagens referentes a cada ácido não ultrapassam os 25% . As percentagens próximas da composição de AOV's adequada para a produção de biopolímeros com boas qualidades termoplásticas não foram atingidas.

A biodegradabilidade do substrato máxima foi de 33% após 31 dias, correspondendo este valor ao ensaio de maior F/M aplicado e com maior alcalinidade, R3.Alk4.

O grau de acidificação apresenta o seu valor máximo de 33,8%, no 1º ensaio com F/M=8.

keywords acidogenesis, anaerobic digestion, sludge DAF, volatile organic acids, biopolymers

abstract

The search and adoption of environmental friendly mesures that prevent the landfill deposition of industrial organic waste in a along with research regarding the improvement of those wastes are the thematic where this work will focus. The main goal was the evaluation of fat industrial sludge acidogenesis (DAF sludge) as a mean for production of VFAs (volatile fatty acids). These may be used as substract for biopolymers production.

During this work was studied the influence of the alkalinity and F/M rate, using the same operational temperature – mesophilic (37ºC). This analysis was conducted during 3 tests using 3 anaerobic discontinuous reactors for each test.

All trials were executed without pH control, but with different F/M rates (8, 14, 20) and also alkalinity variations (0,2 g CaCO3 /L and 4g CaCO3 /L) between reactors.

High alkalinity and hight organic load improved the VFAs production for all loads.

The highest VFA ratio was achieved for a F/M rate of 20, with a total VFA concentration of 11781 mgAAc/L at the beginning of the test (0h).

The most abundant VFAs during the tests were the n-butyric, propionic and acetic acids.

For all the tests, in the days of maximum production of TAOV's, percentages for each acid do not exceed 25%.The percentages near the AOV's composition appropriate for the production of thermoplastic biopolymers with good qualities were not achieved. The maximum biodegradability of the substrate was 33% after 31 days corresponding to test with high F / M and with higher alkalinity, R3.Alk4.

The maximum degree of acidification was 33.8% for the 1st test with F/M = 8.

INDICE GERAL

INDICE DE FIGURAS iv

INDICE DE TABELAS viii

LISTA DE ABREVIATURAS x

1 INTRODUÇÃO 1

1.1 Enquadramento 3

1.2 Objetivos 6

1.3 Estrutura da Dissertação 7

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 9

2.1 A Indústria de laticínios 11

2.1.1 Caracterização do setor em Portugal 13

2.1.2 Efluentes das indústrias de lacticínios 15

2.1.3 Problemática da disposição de efluentes lacticínios 19

2.2 A digestão anaeróbia 24

2.2.1 Perspetiva histórica 24

2.2.2 Microbiologia e bioquímica 27

2.2.2.1 Hidrólise 28

2.2.2.2 Acidogénese 29

2.2.2.3 Acetógenese 30

2.2.2.4 Metanogénese 31

2.2.3 Factores que interferem na DA 33

2.2.4 pH e alcalinidade 33

2.2.5 Temperatura 34

2.2.6 Necessidades nutricionais 35

2.2.7 Toxicidade e inibição 37

3 A ACIDOGÉNESE ANAERÓBIA NA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS VALORIZÁVEIS – BIOPOLÍMEROS 41

3.1 polÍmeros biodegradáveis 43
3.1.1 Biopolímeros....45
3.1.2 Polihidroxialcanoatos- PHAs 47
3.1.2.1 A acidogénese na produção de PHA's 49

4 MATERIAIS E MÉTODOS.... 53

4.1 LAMAS DAF – armazenamento e manipulação 55

4.2 LAMAS BIOLóGICAS- preparação e armazenamento 57

4.3 ENSAIOS DE ACIDIFICAÇÃO....58
4.3.1 Planeamento dos ensaios experimentais....58
4.3.2 Instalação experimental....58
4.3.3 Condições operatórias....59
4.3.4 Plano de Monitorização – amostragem 60
4.3.5 Preservação de amostras....60

4.4 METODOLOGIA ANALITICA 61
4.4.1 pH 61
4.4.2 Alcalinidade 61
4.4.3 Carência química de oxigénio (CQO)....62
4.4.4 Sólidos (SST e SSV) 63
4.4.5 Biogás....63
4.4.6 Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's) 65

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 69

5.1 Ensaios Laboratoriais 71

5.2 ENSAIO 1 73
5.2.1 Caracterização do substrato e lamas biológicas utilizadas - parâmetros operacionais ...74
5.2.2 Confirmação do valor de F/M imposto ao ensaio 76
5.2.3 Perfis temporais das variáveis de monitorização do sistema 76
5.2.3.1 Evolução do pH....76
5.2.3.2 Alcalinidade....77
5.2.3.3 CQO total 78
5.2.4 Produção e composição de biogás na digestão anaeróbia do ensaio 1 79
5.2.5 Evolução Temporal dos Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's) 80

5.2.6 Perfil de Carência Química de Oxigénio – CQO (mg/L), produção Total de Ácidos Voláteis – TAOV's (mg CQO/L) e pH. 85
5.2.7 Rendimento de conversão de CQO a AOV 87
5.2.8 Composição em termos de % AOV's no Ensaio 1 89
5.2.9 Resumo dos resultados experimentais de AOV's – Ensaio 1 90

5.3 ENSAIO 2 93
5.3.1 Caracterização do substrato e biomassa utilizada - parâmetros operacionais 94
5.3.2 Perfis temporais das variáveis de monotorização do sistema 95
5.3.2.1 Evolução do pH 95
5.3.2.2 Alcalinidade 96
5.3.2.3 CQO total 96
5.3.3 Produção e composição de biogás na digestão anaeróbia do ensaio 2 97
5.3.4 Evolução Temporal dos Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's) 98
5.3.5 Perfil de Carência Química de Oxigénio – CQO (mg/L), produção Total de Ácidos Voláteis – TAOV's (mg CQO/L) e pH. 103
5.3.6 Rendimento de conversão de CQO a AOV 105
5.3.7 Composição em termos de % AOV's no Ensaio 2 107
5.3.8 Resumo dos resultados experimentais de AOV's – Ensaio 2 108

5.4 ENSAIO 3 111
5.4.1 Caracterização do substrato e biomassa utilizada - parâmetros operacionais 112
5.4.2 Perfis temporais das variáveis de monotorização do sistema 113
5.4.2.1 Evolução do pH 113
5.4.2.2 Alcalinidade 113
5.4.2.3 CQO total 114
5.4.3 Produção e composição de biogás na digestão anaeróbia do ensaio 3 115
5.4.4 Evolução Temporal dos Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's) 115
5.4.5 Perfil de Carência Química de Oxigénio – CQO (mg/L), produção Total de Ácidos Voláteis – TAOV's (mg CQO/L) e pH. 120
5.4.6 Rendimento de conversão de CQO a AOV 122
5.4.7 Composição em termos de % AOV's no Ensaio 3 123
5.4.8 Resumo dos resultados experimentais de AOV's – Ensaio 3 125

5.5 Intercomparação de resultados 127
5.5.1 Produção total de metano nos reatores com e sem alcalinidade, em função do F/M 127
5.5.2 Rendimento da conversão a metano(%) 128
5.5.3 Conversão Instantânea AOV's (%) 129
5.5.4 Conversão global a AOVs (%) 130
5.5.5 Conversão global nos diferentes produtos da digestão (%) 133

5.5.6 Biodegradabilidade 134

6 CONCLUSÕES 137

7 BIBLIOGRAFIA 143

ANEXOS 155

ANEXO I – CONVERSÃO DE CH4 EM CQO 157

ANEXO II – FATORES DE CONVERSÃO DO CQO INICIAL A CQO AOV'S ... 158

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução mundial da produção de leite entre 2000 e 2009. (Adaptado do boletim da I.N.P.A. - World Dairy Situation 2010) 11

Figura 2 - Produção mundial de leite per capita versus o desenvolvimento populacional mundial. (Adaptado do boletim da I.N.P.A. - World Dairy Situation 2010). 12

Figura 3 - Produção nacional de leite em 2009, 2010 e 2011 para o leite de ovelha, cabra e vaca. (Adaptado de INE –Estatísticas Agrícolas 2011). 13

Figura 4 - Produção nacional de queijos, manteiga, leite para consumo e de leites acidificados nos anos de 2009, 2010 e 2011(Adaptado de INE –Estatísticas Agrícolas 2011). 14

Figura 5 – Matérias primas do sector da indústria de lacticínios (Adaptado de ENEAPAI 2007) 16

Figura 6 - Diagrama do processo típico de fabrico de leite (INETI 2001- Guia Técnico Sectorial – Indústria de Lacticínios). 17

Figura 7 Diagrama do processo típico de: A) queijo fresco, B) Requeijão. (Adaptado de: INETI 2001- Guia Técnico Sectorial – Indústria de Lacticínios). 18

Figura 8- Lamas DAF resultantes do processo de tratamento -*Dissolved Air Flotoation – DAF* (Retirada de: www.kensol.ie/) 21

Figura 9 - Processo da degradação da matéria orgânica através da digestão anaeróbia (Adaptado de Y. Li et al. 2010 27

Figura 10 - Diagrama simplificado de desassimilação de substrato na digestão anaeróbia. (Adaptado de Evans 2001, Biowaste and biological waste treatment).....32

Figura 11- Produção Mundial de plásticos de 1950 a 2010. (Fonte: Plastics Report 2011- www.plasticseurope.org) 43

Figura 12 - Reciclagem e recuperação total de plásticos entre 2006 e 2010. (Fonte: Plastics Report 2011 - www.plasticseurope.org 44

Figura 13 - Ciclo de vida de materiais biodegradáveis (Fonte: www.european-bioplastics.org).....46

Figura 14 - Estrutura molecular geral dos polihidroxialcanoatos (PHAs), com m = 1, 2, 3 (m= 1 mais comum), com n a variar de 100 a milhares de unidades e R variável- (Fonte: Chen 2005).....48

Figura 15– Micrografia de transmissão de elétrons das bactérias P. putida CA-3 onde as suas células contêm grânulos de PHA acumulados, A barra representa 1µm (Fonte: Ward et al 2005).....49

Figura 16 - Homogeneização das lamas DAF 55

Figura 17 - Esquema da instalação laboratorial utilizada (Editado de: Isidoro C.(2009) Fermentação acidogénica para produção de substratos de biopolímeros).....59

Figura 18 – Exemplo de cromatograma obtido pelo programa Peak Simple v.3.29 onde se apresenta a análise em termos de : A) presença de: componentes gasosos como N_2, H_2, H_2S, etc, B) CH_4 e C) CO_2 65

Figura 19 - Exemplo de um cromatograma resultante de uma análise a uma amostra de AOV's ..67

Figura 20 - Evolução temporal do valor de pH para os reatores do Ensaio 1 (F/M=8). 77

Figura 21- Valores de CQO total no inicio e no fim do ensaio 1. 79

Figura 22 - Produção cumulativa de metano para os reatores R1 com alcalinidade nula, R2 com alcalinidade 2 e R3 com alcalinidade 4 (em g CaCO3/L) para uma razão de F/M=8 e T=37ºC. 80

Figura 23– Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R1 para uma alcalinidade nula e F/M=8 a T=37ºC. 81

Figura 24 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R2 para uma alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L e F/M=8 a T=37ºC. 82

Figura 25 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R3 para uma alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L e F/M=8 a T=37ºC. 83

Figura 26 - Composição de AOV's para o dia de maior produção de TAOV's - F/M=8 a T=37ºC ...84

Figura 27 –Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 1, respeitante ao R1 com alcalinidade nula – 0 g $CaCO_3$/L 85

Figura 28 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 1, respeitante ao R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L 86

Figura 29 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 1, respeitante ao R3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L 87

Figura 30– Rendimento da conversão de CQO adicionado a AOV's em % para o período experimental referente ao 1º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L....88

Figura 31 – Variação temporal da composição total de AOV´s em % para o período experimental referente ao 1º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L. 90

Figura 32 - Evolução temporal do valor de pH para os reatores do Ensaio 2 (F/M=20). 95

Figura 33- Valores de CQO total no inicio e no fim do ensaio 2. 97

Figura 34 - Produção cumulativa de metano para os reatores R1 com alcalinidade nula, R2 com alcalinidade 2 e R3 com alcalinidade 4 (em g CaCO3/L) para uma razão de F/M=20 e T=37ºC....98

Figura 35 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R1 para uma alcalinidade nula e F/M=20 a T=37ºC. 99

Figura 36 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R2 para uma alcalinidade 2 g $CaCO_3$/L e F/M=20 a T=37ºC. 100

Figura 37 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R3 para uma alcalinidade 4 g $CaCO_3$/L e F/M=20 a T=37ºC. 101

Figura 38 - Composição de AOV's para o dia de maior produção de TAOV's - F/M=20 a T=37ºC 102

Figura 39 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 2, respeitante ao R3 com alcalinidade nula....103

Figura 40 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 2, respeitante ao R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$ 104

Figura 41 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 2, respeitante ao R3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$ 105

Figura 42 - Rendimento da conversão de CQO adicionado a AOV's em % para o período experimental referente ao 2º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalindade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$.....106

Figura 43 - Variação temporal da composição de AOV em % para o período experimental referente ao 2º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L.....108

Figura 44 - Evolução temporal do valor de pH para os reatores do Ensaio 3 (F/M=14). 113

Figura 45- Valores de CQO total no inicio e no fim do ensaio 3. 114

Figura 46 - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 com alcalinidade nula, R2 com alcalinidade 2 e R3 com alcalinidade 4 (em g $CaCO_3$/L) para uma razão de F/M=20 e T=37ºC.....115

Figura 47 Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R1 para uma alcalinidade nula e F/M=14 a T=37ºC. 116

Figura 48 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R2 para uma alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L e F/M=14 a T=37ºC. 117

Figura 49- Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R3 para uma alcalinidade de 4 $CaCO_3$/L e F/M=14 a T=37ºC 118

Figura 50 - Composição de AOV's para o dia de maior produção de TAOV's - F/M=14 a T=37ºC 119

Figura 51 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 3, respeitante ao R3 com alcalinidade nula.....120

Figura 52 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 3, respeitante ao R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L 121

Figura 53 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 3, respeitante ao R3 com alcalinidade de 4 g $NaHCO_3$ 121

Figura 54 - Rendimento da conversão de CQO adicionado a AOV's em % para o período experimental referente ao 3º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalindade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$.....123

Figura 55 - Variação temporal da composição de AOV em % para o período experimental referente ao 3º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L 124

Figura 56- Produção total de metano nos reatores em função da razão F/M para a temperatura de T=37ºC.....127

Figura 57 - Conversão de CQO a metano (%) para os reatores em função da razão F/M para a temperatura de T=37ºC. 128

Figura 58 - Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reatores com e sem alcalinidade para F/M=8 aplicada para a temperatura de 37 ºC 129

Figura 59 - Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reatores com e sem alcalinidade para F/M=14 aplicada para a temperatura de 37ºC 129

Figura 60- Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reatores com e sem alcalinidade para F/M=20 aplicada para a temperatura de 37ºC 130

Figura 61 - Conversão global de COQ a AOV's (%) para o dia final de operação dos reatores com e sem alcalinidade em função razão F/M para a temperatura de 37ºC. 131

Figura 62 - Conversão global de COQ a AOV's (%) para o 18ºdia para os reatores com e sem alcalinidade em função razão F/M para a temperatura de 37ºC. 132

Figura 63 - Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade para F/M= 8, 14 e 20 para a temperatura de 37ºC. 133

Figura 64 - Valores de CQO total adicionado inicial e CQO final com a respetiva % de biodegradabilidade para F/M= 8, 14 e 20 para a temperatura de 37ºC. 135

INDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios típicos para os efluente líquidos de uma indústria de leite (INETI 2001-Guia Técnico Sectorial – Indústria de Lacticínios).....18

Tabela 2 - Desenvolvimento histórico da biotecnologia anaeróbia. (Fonte: Samir Khanal, 2008)...26

Tabela 3 - Funções dos micronutrientes na digestão anaerobia (Adaptado de Kayhanian e Rich, 1995).....36

Tabela 4 - Funções dos macronutrientes na digestão anaeróbia (Adaptado de Kayhanian e Rich, 1995).....37

Tabela 5 –Principais compostos ou grupos de compostos químicos que apresentam toxicidade ou são inibidores da digestão anaeróbia (Adaptado de Ferreira 2009).....38

Tabela 6 - Principais familias de biopolimeros com efectiva produção mundial. (Pradella, 2006)..46

Tabela 7 - Estudos referentes á produção de AOV's.....51

Tabela 8 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para os ensaios. 59

Tabela 9– Parâmetros, periocidade e ponto de amostragem. 60

Tabela 10 - Condições de operação do cromatógrafo gasoso 64

Tabela 11 - Condições de operação do cromatógrafo gás-líquido para determinação de AOVs 66

Tabela 12– Ensaios realizados e principais parâmetros de caracterização. 71

Tabela 13 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para o Ensaio 1 73

Tabela 14– Caracterização inicial das lamas DAF e biomassa utilizada no ensaio 1 74

Tabela 15–Conteudo inicial dos reatores utilizados no ensaio 1 74

Tabela 16 - Constituição das soluções de micro e macronutrientes utilizadas (Adaptado de: Nadais, 2001). 75

Tabela 17 - Resultados das análises ás lamas DAF para confirmação do F/M imposto ao ensaio.76

Tabela 18 - Valores de alcalinidade obtidos para os reatores referentes ao Ensaio 1. 78

Tabela 19 - Quadro resumo dos resultados obtidos no 1º ensaio relativamente á produção de AOV's.....91

Tabela 20 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para o Ensaio 2 93

Tabela 21 - Caracterização inicial das lamas DAF e biomassa utilizada no ensaio 2 94

Tabela 22 - Caracterização do conteudo dos reatores utilizados no ensaio 2.....94

Tabela 23 - Valores de alcalinidade obtidos para os reatores referentes ao Ensaio 2. 96

Tabela 24 - Quadro resumo dos resultados obtidos no 2º ensaio relativamente á produção de AOV's.....109

Tabela 25 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para o Ensaio 3 111

Tabela 26 - Caracterização inicial das lamas DAF e biomassa utilizada no ensaio 3 112

Tabela 27 - Caracterização do conteudo dos reatores utilizados no ensaio 3.....112

Tabela 28 - Valores de alcalinidade obtidos para os reatores referentes ao Ensaio 3.....114

Tabela 29 - Quadro resumo dos resultados obtidos no 3º ensaio relativamente á produção de AOV's.....125

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac- Ácido

Act – Acético

AOVs - Ácidos orgânicos voláteis

AGCL- Ácidos gordos de cadeia longa

AGV - Ácidos gordos voláteis

APHA - American Public Health Association 1999

CQO - Carência química de oxigénio

CQOs - Carência química de oxigénio solúvel

CQOt - Carência química de oxigénio total

DA – Digestão Anaeróbia

DAF – Dissolved Air Flotation - Flotação por Ar Dissolvido

ETARI- Estação de Tratamento de Águas Residuais Industriais

F/M - Razão substrato/ microrganismos

PHA's - Polihidroxialcanoatos

SST - Sólidos suspensos totais

SSV - Sólidos suspensos voláteis

TAOV's – Total de Ácidos orgânicos voláteis

1 INTRODUÇÃO

1.1 ENQUADRAMENTO

A revolução industrial, no final do século XVIII, trouxe inúmeras mudanças na sociedade, elevando-a em termos tecnológicos e produtivos. Este marco da história mundial, preconizou uma grande evolução, mas também, especialmente durante o século XX, um elevado impacto sobre o meio ambiente que se tornou significativo e cada vez mais visível.

O continuo aumento da população e do consumo, principalmente nos países desenvolvidos, originou problemas ambientais cuja solução é o grande desafio deste início de século para pesquisadores, ambientalistas, governos e comunidades por todo o mundo.

Esta perceção consciente dos efeitos sobre o meio ambiente relativa à forma de atuação do Homem em todos os contextos, tem despertado a atenção pública para a necessidade de adotar práticas com menos impactos associados. No entanto, a atual sociedade, industrial e tecnológica, tem introduzido cada vez mais novos materiais no ambiente que carecem de soluções que permitam a sua correta eliminação.

O ambiente urbano desenvolveu determinados aspetos culturais no seu consumo que maximizaram desde a sua descoberta, a utilização dos plásticos. A abrangente aplicação dos plásticos tem possibilitado grandes avanços e benefícios na atualidade. Os seus custos competitivos, facilidade de manipulação e baixa manutenção, tornaram os plásticos apropriados para dar resposta às necessidades básicas como alojamento, saneamento e saúde. No entanto, sendo inegavelmente considerados como imprescindíveis na atualidade, os impactos negativos que lhe são associados representam uma grave realidade em termos ambientais.

A atual, efetiva e massiva presença dos “plásticos” no dia-a-dia da sociedade exerce uma gradual pressão sobre os ecossistemas devido às próprias características que os tornam tão utilizados, como a durabilidade e longevidade. A degradação dos plásticos no ambiente atinge valores da ordem das centenas de anos, levando a graves problemas de poluição que aumentam a sua já extensa pegada ecológica.

A maioria dos plásticos é passível de ser sujeita a um processo de reciclagem, o que representa, além de uma atividade ecologicamente correta, uma forma de incrementar a própria economia de um país. No entanto, a reciclagem por si só, apesar de todos os esforços direcionados na sua adoção, não constitui uma solução total na minimização dos impactos associados aos plásticos. A grande diversidade de plásticos existente acrescida dos custos de lavagem e de logística para transporte e manipulação, evidenciam a necessidade de promover novas tecnologias para o seu tratamento e disposição final.

Numa época em o aquecimento global do planeta e a exaustão dos recursos fósseis reclama mais atenção, a temática em torno dos biopolímeros (ou bioplásticos) ganha enfâse. A

dependência petrolífera assume mundialmente contornos preocupantes e tem levado a inúmeras investigações sobre que novas posturas se devem adotar para continuar a dar resposta às necessidades impostas pela atual sociedade.

Nos dias de hoje, o petróleo constitui a principal fonte energética mundial, determinando uma economia ditada pela produção e comercialização de combustíveis fósseis. O facto de polímeros serem sinteticamente derivados do petróleo e o continuo aumento do preço dos seus derivados, incrementa a necessidade de procurar novas alternativas, tendo em mente que este recurso não é renovável.

O desenvolvimento da indústria de produção de biopolímeros assume assim, um lugar proeminente como alternativa aos materiais de origem fóssil. A degradação dos bioplásticos no meio ambiente sendo consideravelmente mais rápida e o facto de a sua matéria prima ser uma fonte de carbono renovável atribui inúmeras vantagens à sua utilização.

A produção de biopolímeros tem já uma real presença no mercado mundial. De facto, desde há algumas décadas que se fazem pesquisas neste sentido e alguns produtos já se encontram em comercialização. Muitos países possuem já políticas governamentais que objectivam a pesquisa e o desenvolvimento do mercado de biopolímeros, estando apoiados em legislação que lhes permite formar uma base para a utilização eficiente destes materiais. No cenário mundial, segundo a associação European Bioplastics, aparece com destaque a Europa (Alemanha, França, Bélgica, Holanda, Áustria, Uk, Polônia e Itália) com mais de 1600 produtos comerciais certificados no mercado, o Japão e Austrália com 1200 certificados emitidos, EUA e Canadá com mais de 600.

Abordagens a técnicas em biotecnologia, combinadas com a química tradicional baseada em produtos naturais, a par da própria síntese de polímeros (Setor Reciclagem, 2008), estão a possibilitar a introdução no mercado de uma grande variedade de novos materiais termoplásticos e compósitos naturais como alternativas economicamente viáveis aos materiais provenientes de recursos fosseis não renováveis, em termos de comparação da análise do ciclo de vida e dos seus impactos ambientais associados.

A investigação em torno dos biopolímeros, apresenta-se assim, como atual e com um papel preponderante para o futuro. Embora a indústria de biopolímeros se encontre já implementada e exista cada vez mais um maior interesse por parte dos governos e dos próprios consumidores, torna-se importante investigar novos processos produtivos que possibilitem que o produto se torne economicamente mais viável face aos polímeros sintéticos.

Ao longo das últimas décadas muitos estudos foram realizados na procura de materiais e métodos que possam dar origem a um substrato passível de ser utilizado na formação de biopolímeros. Particularmente, tem sido atribuída especial atenção ao desenvolvimento de

polímeros produzidos por via microbiológica, os polihidroxialcanoatos (PHA), que devido ás suas propriedades termoplásticas possibilitam uma grande aplicação em vários tipos de produtos (Finkler, 2006). Os PHA são poliésteres de hidroxialcanoatos, sintetizados por bactérias como fonte de carbono e energia, sendo produzidos a partir da fermentação de matérias-primas renováveis (Brito et al, 2011). Atualmente, o tipo de matéria-prima varia muito, dependendo do tipo de produto desejado e dos microrganismos utilizados. Nos Estados Unidos a matéria prima mais utilizada para a fermentação é a chamada milhocina, que resulta da moagem húmida do milho, na Europa, é o açúcar derivado da beterraba e no Brasil, a cana de açúcar (Brito et al, 2011; Capellari, 2010).

No presente trabalho são utilizadas lamas resultantes do processo de Flotação por Ar Dissolvido (DAF) de um efluente da indústria de laticínios. Do ponto de vista da produção de PHA's, as lamas gordas de Estações de Tratamento de Água Residual Industrial (ETARI) de lacticínios, devido ao seu elevado teor de gorduras e Carência Química de Oxigénio, (CQO) possuem potencial para a formação de AOV's, os quais poderão servir como substratos para a produção de biopolímeros. Este facto representa uma mais valia em termos ambientais e no cumprimento da legislação vigente, uma vez que a matéria orgânica tem atualmente a sua deposição limitada nos aterros pela Diretiva Aterros (Diretiva Comunitária nº1999/31/CEE, do Conselho, de 26 de Abril).

Este tipo de resíduo, originado essencialmente pela industria de lacticínios, representa uma elevada sobrecarga para o meio hídrico. Uma vez que a indústria de lacticínios dispõe de uma grande representatividade em termos nacionais, os impactos associados intensificam-se, assim como a necessidade de adequação de tratamento aos seus efluentes.

A possibilidade de utilização das lamas DAF, como resíduo valorizável representa assim uma mais valia na procura de um equilíbrio entre a preservação ambiental e o desenvolvimento da economia de um país.

1.2 OBJETIVOS

A presente dissertação tem como objetivo geral a otimização da fermentação acidogénica mesofílica de lamas de uma ETARI de lacticínios (lamas DAF) para a produção de AOV's, que podem ser utilizados como substrato na síntese de biopolímeros, os polihidroxialcanoatos (PHA). Neste contexto, pretende-se a valorização das lamas DAF, evitando a sua deposição em aterros, indo ao encontro das politicas comunitárias vigentes.

Este trabalho incide na optimização da fermentação acidogénica de lamas DAF em reatores descontínuos (batch) anaeróbios, operados em regime mesofílico (37ºC). Nestas condições e variando a carga orgânica aplicada e a alcalinidade impostas inicialmente, à temperatura referida, pretende-se obter o máximo rendimento de conversão de carência química de oxigénio (CQO) aos ácidos gordos voláteis (AOV's). Também se pretende que exista uma optimização em termos de da percentagem de AOV's com número de carbonos ímpar, os quais conduzem à produção de monómeros HV e HB que melhoram as propriedades térmicas e plásticas dos biopolímeros. Estes valores pretende-se que assumam valores próximos de 30% e 70% respectivamente para o ácido propiónico (AOV de cadeia par) e ácido acético (AOV de cadeia ímpar) (Silva, 2012).

1.3 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação encontra-se estruturada em sete capítulos.

O primeiro capitulo corresponde à introdução, na qual se realiza um enquadramento do trabalho apresentado, expondo a atual problemática ambiental associada à comercialização dos plásticos e dependência face ao petróleo como principal fonte energética. Atribui-se especial importância aos biopolímeros e à necessidade de incrementar a investigação em torno da produção de PHA's.

No capitulo 2 realiza-se uma breve caracterização da indústria de lacticínios em termos mundiais. Remete-se esta caracterização posteriormente para o âmbito nacional e apresentam-se os principais efluentes associados à industria de lacticínios. Neste capitulo, é também apresentado o problema de disposição dos efluentes associados a esta atividade, nomeadamente as lamas DAF.

Finalizando o capitulo 2, é exposto o processo de digestão anaeróbia, partindo de uma analise histórica em que se salientam os principais passos dados na evolução da aplicação desta biotecnologia. São posteriormente descritas as principais transformações bioquímicas que ocorrem no processo de digestão anaeróbia e microbiologia associada, sendo por último apresentados os principais fatores que intervêm neste processo e que foram considerados como mais relevantes para o trabalho apresentado.

No capitulo 3, atribui-se especial enfoque à acidogénese e expõe-se a importância desta etapa na formação de compostos valorizáveis para a formação de biopolímeros (PHA's). São descritos alguns trabalhos de investigação realizados que refletem a importância da digestão anaeróbia na valorização de alguns resíduos.

No capitulo 4 são expostos os materiais e métodos seguidos na execução laboratorial, sendo descritos os procedimentos de manipulação, armazenamento da biomassa e substrato utilizados. É apresentado o planeamento efectuado, a configuração experimental e o plano de amostragem seguido ao longo dos ensaios, além dos métodos de preservação de amostras utilizados. Por fim, é apresentada a metodologia analítica.

O capitulo 5 é referente aos resultados dos ensaios efetuados e respectivas discussões. São apresentados os parâmetros de caracterização de lamas DAF e biomassa utilizadas e os perfis temporais obtidos para cada ensaio.

Finalizando, o capitulo 6 corresponde à discussão integral de todas as conclusões e o capitulo 7 enumera a bibliografia consultada para a elaboração da tese.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS

A indústria de laticínios ao nível mundial apresenta-se como um sector de destaque, uma vez que produz um bem essencial para a nutrição e saúde humana. Este sector continua em constante crescimento e evolução, apresentando aumentos ao nível da produção. Segundo o boletim da International Dairy Federation (I.N.P.A.), World Dairy Situation 2010, a produção de leite ao nível global tem cumprido as necessidades e exigências de várias regiões e continentes (Figura 1).

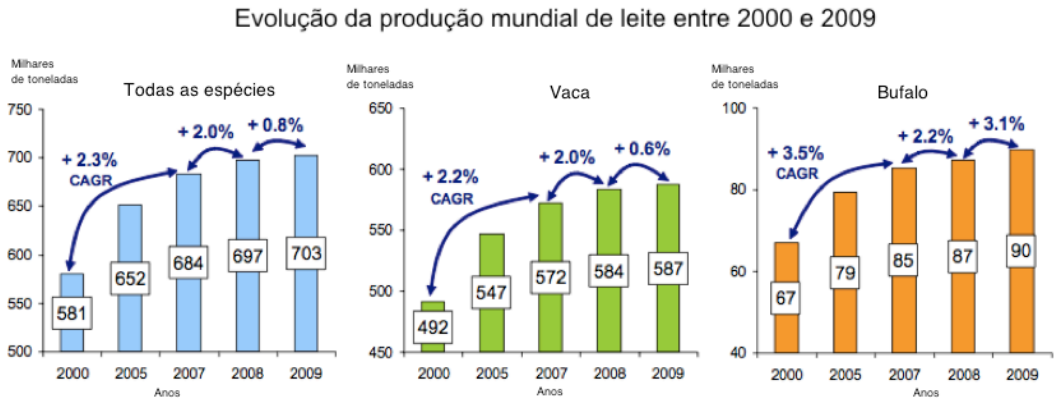


Figura 1 - Evolução mundial da produção de leite entre 2000 e 2009. (Adaptado do boletim da I.N.P.A. - World Dairy Situation 2010)

No entanto, tal como se verifica na Figura 1, embora se registe o contínuo aumento mundial da produção de leite, a taxa de crescimento diminuiu em 2009. Comparando o ano de 2009 com 2008 houve um aumento de apenas 0,8% para 703 milhões de toneladas, sendo esta taxa bastante pequena em comparação com 2008 e em relação a 2007 (+2,0%) e muito inferior à taxa de crescimento anual (+2,3%) observada durante o período de 2000 a 2007. Segundo a mesma fonte já citada, também em 2009, o aumento da produção de leite foi menor do que o crescimento da população mundial (+1,4%), sendo que tais valores advêm do resultado de condições meteorológicas fora do normal que se verificaram nas principais áreas de produção de leite. Além disso, no mesmo ano, a produção láctea chinesa sofreu o impacto da conhecida crise da melamina, pelo que a consequente desconfiança por parte dos consumidores impediu a produção nos últimos meses de 2008, alterando o seu hábito de consumo e assim, indiciando uma quebra na produção láctea mundial. A indústria de leite, á semelhança de outras indústrias, assume deste modo uma elevada dependência de factores ambientais, sociais e económicos que moldam a evolução e importância deste sector na sociedade.

Como principal matéria prima na indústria de lacticínios mundial temos o leite de vaca que, segundo a fonte já citada (World Dairy Situation 2010), apresenta como representatividade 84% da

produção total mundial de leite. A sua taxa de crescimento foi cerca de 0,6% em 2009, o menor valor observado desde 1997. Da mesma forma, a produção de leite de vaca diminuiu em muitas partes do mundo, como na União Europeia, Estados Unidos, Ucrânia, Austrália, Japão, África do Sul e até mesmo na China, onde o enorme crescimento observado desde 2000 foi levado a uma paralisação total pela já referida crise da melamina. Apesar dos efeitos da crise mundial láctea no final de 2009, segundo a mesma fonte, o comércio mundial em produtos lácteos continuou a aumentar, passando 7% em 2009 acima dos níveis de anos anteriores.

Em 2009, produção mundial de leite/consumo (de todos os tipos de leite) atingiu um nível de mais de 703 milhões de toneladas que comparado com o ano de 2000, incorrendo no aumento do volume total em 21% (+122 milhões de toneladas) (Figura 2). Assim, com uma população estimada no valor de 6,83 bilhões de pessoas, o consumo per capita mundial de leite em 2009 foi de 103,0 kg. Devido ao crescimento contínuo da população mundial, o consumo mundial de leite per capita no período entre 2000 e 2009 cresceu mais do que 8%. No entanto, no mesmo ano de 2009, pela primeira vez em anos, o consumo global de leite per capita diminuiu 0,4%, devido ás razões já evidenciadas.

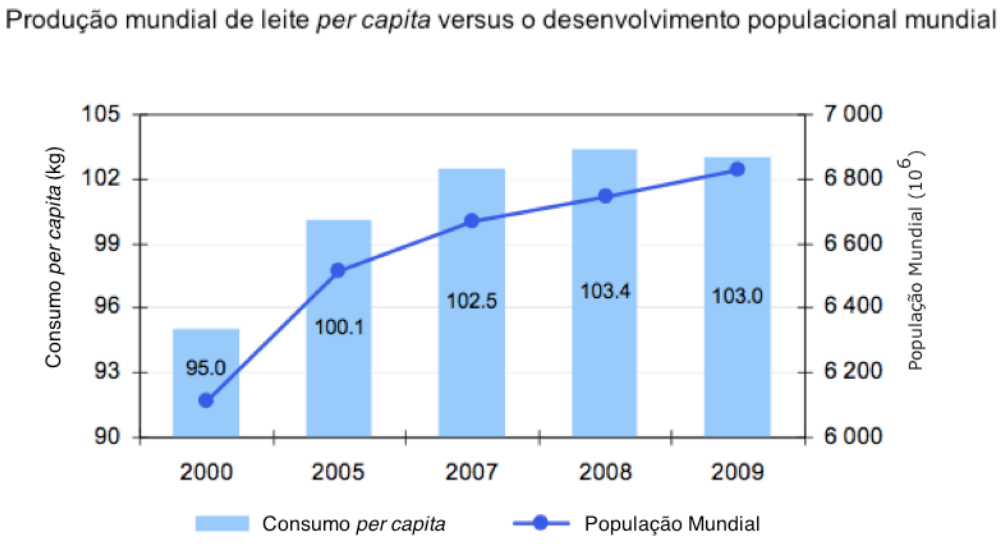


Figura 2 - Produção mundial de leite per capita versus o desenvolvimento populacional mundial. (Adaptado do boletim da I.N.P.A. - World Dairy Situation 2010).

O comércio de laticínios está assim sujeito a uma elevada dinâmica ao nível mundial. A produção e procura de leite e o próprio desenvolvimento económico nas diversas regiões do mundo, encontram-se intrinsecamente relacionadas.

2.1.1 Caracterização do setor em Portugal

A indústria agroalimentar é um setor industrial com um elevado peso na economia europeia. Segundo o relatório anual da Confederação das Indústrias Agro Alimentares (CIAA) da União Europeia (UE), este sector apresentava no ano de 2010 a maior produção industrial, com um volume de negócios de € 954.000.000.000 (12,9% do sector produtivo) e empregando cerca de 4,2 milhões de pessoas (13,5% do sector industrial).

Do mesmo modo, a agropecuária e a agro-indústria são atividades com grande valor económico em Portugal, constituindo o principal setor em algumas regiões do nosso País. De um ponto de vista social, estes sectores industriais dão um contributo decisivo para a fixação das populações ativas nas regiões onde se encontram instaladas e contribuem para contrariar processos de despovoamento que tendem a ocorrer em algumas áreas rurais (ENEPAI - 2007). Este tipo de indústria é composta por um número muito diversificado de produtos e setores (FIPA), atribuindo-se especial destaque, á industria dos lacticínios, que surge como um sector chave na economia nacional, uma vez que além da sua representatividade ao nível da produção industrial, também envolve um elevado número de produtores associados.

À semelhança do cenário mundial, a produção de produtos lácteos em Portugal tem como matéria prima o leite de vaca, com cerca de 1 906 milhões de litros produzidos no ano de 2011, mantendo o nível de produção relativamente ao ano anterior (+0,4%). A produção de leite de ovelha, a segunda maior produção nacional, (74 milhões de litros) apresentou uma quebra (-4,9%) comparativamente a 2010, enquanto que o leite de cabra, com 27 milhões de litros produzidos, registou um ligeiro aumento (+2,1%) face ao ano anterior (INE – Estatísticas Agrícolas 2011) (Figura 3).

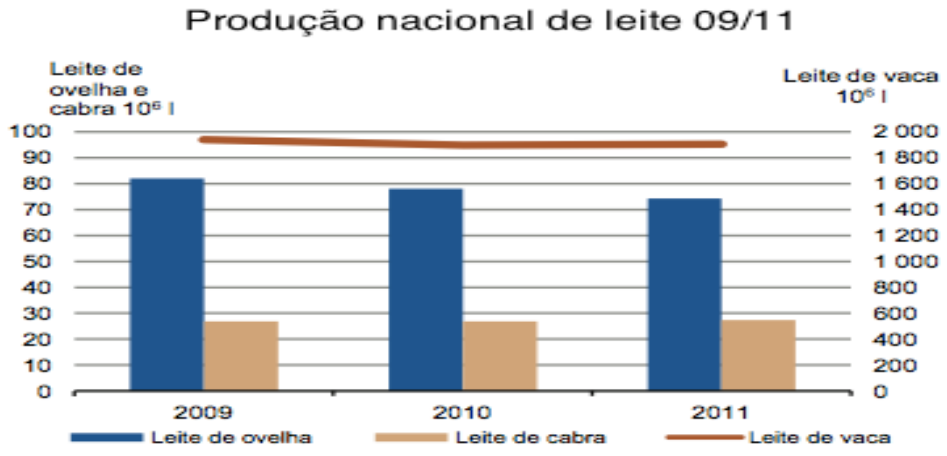


Figura 3 - Produção nacional de leite em 2009, 2010 e 2011 para o leite de ovelha, cabra e vaca. (Adaptado de INE –Estatísticas Agrícolas 2011).

Segundo o a mesma fonte (INE – Estatísticas Agrícolas 2011), em 2011, a indústria de lacticínios nacional direcionou- se para os produtos transformados, nomeadamente o queijo, que com 77 mil toneladas, cresceu cerca de 1% em relação a 2010. Esta evolução resultou sobretudo da orientação para a produção de queijo de vaca (58 mil toneladas) e de cabra (1,7 mil toneladas), que registaram aumentos de cerca de 2%. O queijo de ovelha apresentou uma quebra de 5%, não tendo ultrapassado as 12 mil toneladas no ano em análise (Figura 4).

A produção de manteiga registou também um ligeiro acréscimo em 2011 (+1,7%) relativamente a 2010, tendo sido produzidas 28 mil toneladas. O volume de produtos lácteos frescos aumentou, graças à maior produção de leite para consumo, que com 852 mil toneladas, registou uma subida de 2,5% face ao ano anterior. Já a produção de leites acidificados (que inclui os iogurtes), não ultrapassou as 114 mil toneladas, caindo 1,3% no ano em análise (INE – Estatísticas Agrícolas 2011)(Figura 4).

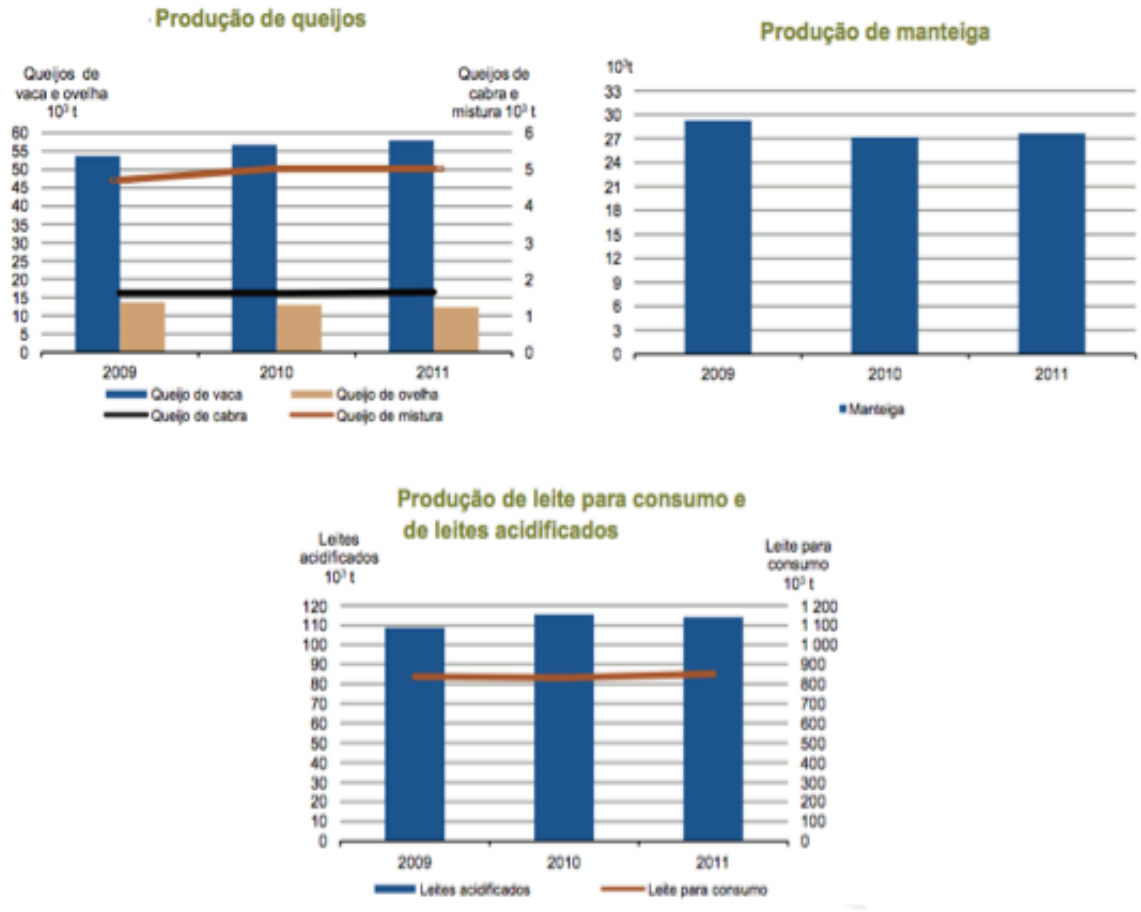


Figura 4 - Produção nacional de queijos, manteiga, leite para consumo e de leites acidificados nos anos de 2009, 2010 e 2011(Adaptado de INE –Estatísticas Agrícolas 2011).

O sector de lacticínios apresenta-se assim como uma atividade produtiva com importância ao nível nacional e deste modo torna-se fulcral a adequada gestão dos seus efluentes.

2.1.2 Efluentes das indústrias de lacticínios

As empresas que compõem a indústria transformadora de lacticínios têm vindo a ser confrontadas com vários desafios, tanto a montante como a jusante, como reflexos da sua atividade. (ANIL 2012). Tratando-se de um dos sectores mais importantes ao nível da indústria, inerentemente, o sector dos lacticínios constitui uma das maiores fontes de efluentes industriais a nível europeu (Schneider e Topalova, 2009).

Ao nível nacional, este tipo de indústria engloba duas importantes unidades de produção, sendo a primeira a que abrange as unidades de produção de maiores dimensões associadas á transformação de leite e produtos lácteos e a segunda a que representa fundamentalmente a produção de queijo tradicional (ENEAPAI -2007). Esta última geograficamente apresenta-se bastante dispersa pelo território nacional, uma vez que no seu conjunto é formada por pequenas unidades industriais que se encontram próximas do próprio produtor. Embora estas unidades produtoras de leite laborem com quantidades reduzidas e consequentemente não tenham associado um elevado caudal de efluentes, o ENEAPAI atribui-lhes bastante importância. Estas industrias são consideradas como as que exercem maior pressão ambiental pelas desajustadas soluções que usualmente atribuem aos seus efluentes, ao contrário das grandes unidades produtivas que devido á sua dimensão, especialização e meios económicos que dispõem, possuem acesso á tecnologia disponível no mercado para o tratamento dos seus efluentes.

Á indústria de lacticínios encontram-se associados efluentes de elevado potencial poluidor. Como em qualquer tipo de fonte geradora de poluição, as características dos efluentes gerados dependem da matéria prima que os origina, pelo que o volume, concentração e composição dos efluentes provenientes da transformação de produtos lácteos está dependente do tipo de produto a ser processado, do próprio programa de produção, dos métodos de funcionamento, das etapas de processamento, da gestão de água aplicada e, subsequentemente, a quantidade de água reutilizada. (Britz et al., 2006).

No caso da produção de produtos lácteos em Portugal, a principal matéria-prima constitui o leite de vaca, pasteurizado ou cru na maior parte dos casos (96%), sendo que o leite de ovelha e cabra representam apenas 1% da matéria-prima usada. No caso das natas, estas contribuem para 2,8% da produção de produtos lácteos (ENEAPAI - 2007) (Figura 5).

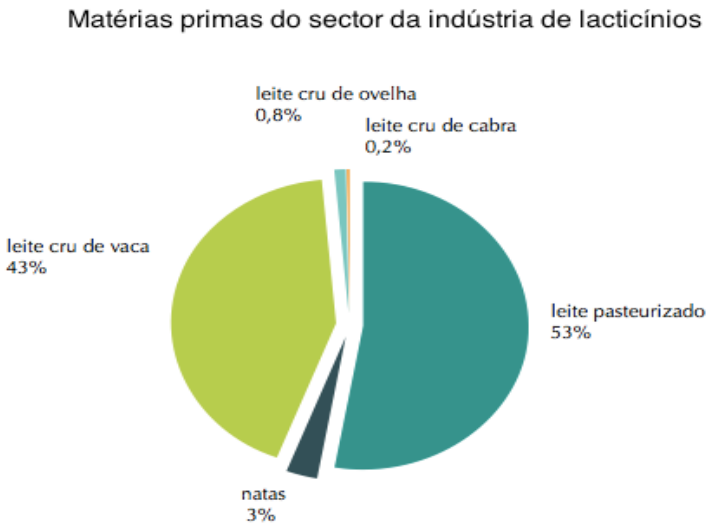


Figura 5 – Matérias primas do sector da indústria de lacticínios (Adaptado de ENEAPAI 2007)

Genericamente, a uma unidade de transformação de leite cru está associada a produção de três tipos de águas residuais: as águas de processamento que são relativas ás usadas nos sistemas de refrigeração e condensação, as águas residuais e as denominadas águas industriais (Gutiérrez et al., 1991; Britz et al., 2006). As águas de processamento normalmente não apresentam qualquer poluente, pelo que com um tratamento mínimo podem ser reutilizadas. Por sua vez, as águas residuais, que se encontram associadas ás instalações sanitárias, são usualmente encaminhadas para a rede de saneamento local (Britz et al., 2006). Por fim, as águas industriais, são as que abrangem todo o processo produtivo de uma unidade de transformação de lacticínios constituindo as que apresentam o maior caudal e potencial poluidor. De uma forma simplificada, este tipo de efluente, resulta de todo o conjunto de operações incluídas no processo de laboração de uma industria de lacticínios, desde a receção, armazenamento e processamento de matéria-prima, embalamento e novo armazenamento do produto final (Britz et al., 2006). Estes efluentes derivam de procedimentos de limpeza de equipamento, derrames de produtos lácteos (desperdícios, má operabilidade), soro de leite, salmouras e podem conter qualquer um dos componentes do leite ou produtos lácteos utilizados como matéria prima (Britz et al.,2006; Leonard,1996) (Figura 6).

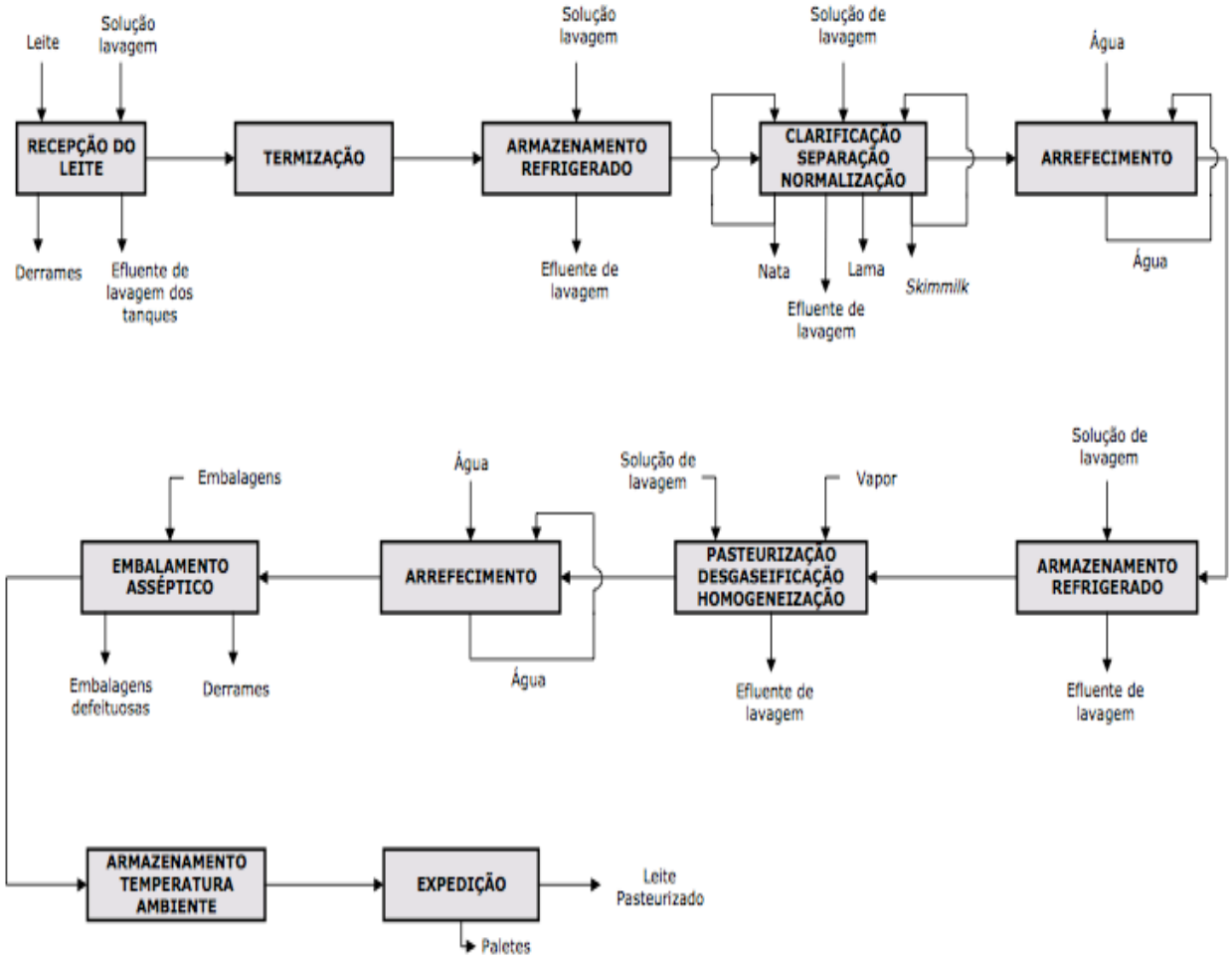


Figura 6 - Diagrama do processo típico de fabrico de leite (INETI 2001- Guia Técnico Sectorial – Indústria de Lacticínios).

Na industria de lacticínios, além dos efluentes associados à produção primária de leite (de vaca, cabra, ovelha, etc) que serve de matéria prima, existe também o processamento para a produção de queijo. A gestão dos efluentes produzidos durante a produção de queijo, é um dos aspetos mais importantes desta atividade em termos ambientais.

Na atividade de produção de queijo os efluentes gerados, de forma simplificada englobam: o soro (resultante do processo de moldagem e prensagem), o sorelho (resultante do fabrico de requeijão), as perdas na produção (resultantes de derrames ou fugas), os produto residuais (que permanecem nos equipamentos), as águas de lavagem (resultantes de todos os processos de limpeza), os detergentes e desinfetantes (usados nas operações de lavagem), lubrificantes (utilizados na manutenção dos equipamentos), sólidos de leite e restos ou pedaços de produto final (retidos em equipamentos) (Costa, 2011) (Figura 7).

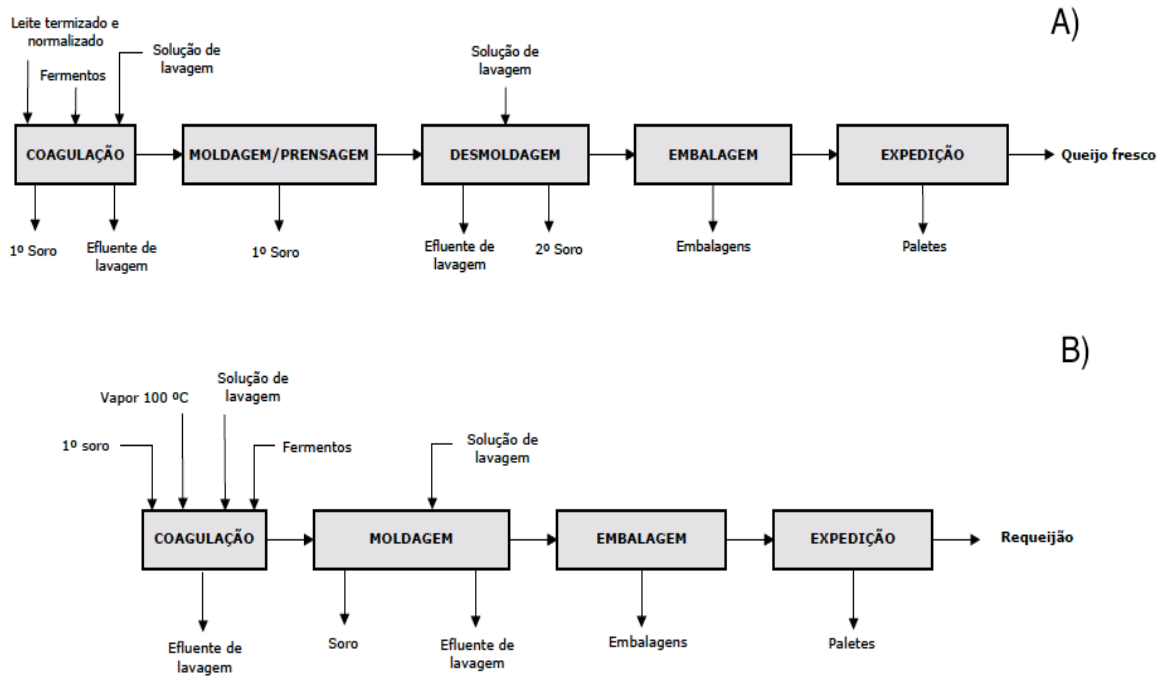


Figura 7 Diagrama do processo típico de: A) queijo fresco, B) Requeijão. (Adaptado de: INETI 2001- Guia Técnico Sectorial – Indústria de Lacticínios).

As águas residuais provenientes de todo o processo de laboração nas indústrias de lacticínios, traduzem-se em um efluente de composição bastante variável (Britz et al, 2006). De um modo geral, as principais características deste tipo de efluente são um alto teor médio de carga orgânica (determinado pela sua carência bioquímica de oxigénio (CBO) ou carência química de oxigénio (CQO), elevada biodegrabilidade, toxicidade baixa ou desprezável, elevado teor de azoto (associado ás proteínas do leite), elevada turvação e um teor em matéria gorda significativo (Britz et al, 2006).

De um modo sucinto, a tabela seguinte apresenta as principais características qualitativas de um efluente proveniente de uma indústria de processamento de leite ao nível nacional.

Tabela 1 – Valores médios típicos para os efluente líquidos de uma indústria de leite (INETI 2001- Guia Técnico Sectorial – Indústria de Lacticínios)

Sector	SST (mg/l)	CQO (mg/l)	CBO_5 (mg/l)	Ól/Gord. (mg/l)	Azoto total (mg/l)	Fósforo total (mg/l)
Leite	480	1 700	1 500	130	50	15
Queijo	1 100	12 000	5 400	380	160	110
Iogurte/Outros	420	2 900	1 400	230	75	10

Considerando que se produz cerca de 2 a 6 L de efluente/L de leite processado (INETI-2001), pelo volume de leite processado em 2011 (1 906 milhões de litros - INE) pode-se estimar uma produção entre 3812 e 11436 de milhões de litros de efluentes de lacticínios em Portugal. Da mesma forma, aplicando o valor apontado como médio em termos de carga orgânica de um efluente de lacticínios (Tabela 1), cerca de 8300 mg CQO.L-1, tem-se para o mesmo ano uma emissão de CQO de 31 a 94 mil toneladas. Quantitativamente, são os subsectores industriais do fabrico de queijo e de iogurtes que contribuem com a maior quantidade de efluentes líquidos, cerca de 63% do volume global (INETI- 2001).

De uma forma geral, as grandes unidades de processamento de leite dispõem de uma Estação de Tratamento de Águas Industriais (ETAI) no próprio local (ENEAPAI 2007). Estas unidades processam as águas residuais provenientes das unidades de laboração, sendo que o processo de tratamento inserido na ETAI é variável, dependendo do tipo de produção e da própria dimensão da empresa. Além disso, o processo de tratamento deve permitir atingir uma qualidade de efluente que viabilize a sua descarga de acordo com a lei vigente. No entanto, o tratamento de águas residuais tem como subproduto as denominadas lamas que derivam de processos de flotação ou do tratamento biológico realizado.

Deste modo, além da própria gestão dos efluentes associados à industria de lacticínios, torna-se também necessário adequar meios para a disposição e eliminação das lamas que originam.

2.1.3 Problemática da disposição de efluentes lacticínios

A industria de lacticínios apresenta-se como causadora de impactes ambientais significativos, nomeadamente no que diz respeito à produção de águas residuais e resíduos.

No contexto nacional, um dos documentos de referência na análise da industria de lacticínios já aqui citado, constitui o intitulado por Estratégia Nacional para os Efluentes Agro - Pecuários e Agro -Industriais (ENEAPAI). Este plano com incidência territorial e sectorial define uma estratégia sustentável, que se enquadra no presente Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN 2007-2013), contemplando o território nacional continental e abrangendo os diversos sectores da produção agropecuária e agroindustrial, integrando as especificidades e características de cada sector produtivo, dos efluentes por eles produzidos e das regiões onde se inserem (ENEPAI- 2007).

Para esta atividade agroindustrial, tendo em conta os impactes ambientais associados e as leis vigentes , no âmbito do Plano Nacional de Prevenção de Resíduos Industriais (PNAPRI) foram publicados em 2001 pelo INETI um conjunto de Guias Técnicos sectoriais. Estes guias pretendem ser um auxilio em termos de adopção de soluções ambientalmente corretas,

disponibilizando orientações em termos de prevenção, ao nível da identificação e caracterização de medidas e/ou tecnologias que possibilitem a redução em termos de quantidade e/ou perigosidade de resíduos e efluentes gerados em todo o processo produtivo com a necessária componente económica associada.

Um dos resíduos a que se atribui uma grande importância ao nível da industria de lacticínios constitui o soro de leite. A este encontra-se associado um tratamento difícil uma vez que dispõe de uma elevada carga orgânica (Britz et al, 2006). Atualmente este resíduo tem como destino o fabrico de raçoes animais ou o fabrico de gelados sob a forma seca e concentrada (60%), a pecuária (25%), o fabrico de requeijão (3%), sendo o restante rejeitado como efluente(12%) (INETI 2001).

Além dos efluentes líquidos já mencionados, nomeadamente as águas industriais, cuja gestão passa pela adequação de um tratamento *in loco* por uma ETARI, um dos grandes problemas deste tipo de industria constitui a disposição/eliminação das lamas resultantes do seu processo de tratamento. Com cerca de 237 mil toneladas de lamas geradas em Portugal (INETI 2000), este tipo de resíduo apresenta uma grande importância em termos de atribuição de uma correta eliminação e economicamente viável. A definição de lamas, no seu sentido mais amplo, considera-se como sendo, segundo o Comité Europeu de Normalização (CEN) *" a mistura de água e de sólidos separada de diversos tipos de água como resultado de processos naturais ou artificiais".*

Nas ETARI das industrias de lacticínios são formadas genericamente dois tipos de lamas, as denominadas lamas DAF e as que resultam do processo de tratamento biológico, as lamas biológicas. Estas não devem ser de preferência misturadas uma vez que as lamas DAF constituem um material residual de difícil desidratação (Britz et al., 2006).

A designação de lamas DAF advém do processo de tratamento que as origina intitulado por Flotação por Ar Dissolvido (*Dissolved Air Flotoation – DAF*). Este tipo de tratamento constitui uma remoção mecânica de gorduras e óleos (fats, oil, and grease- FOG) presentes no efluente. Este procedimento envolve a gaseificação do efluente numa câmara de pressão e de seguida o seu encaminhamento para um tanque de flotação. Na fase de gaseificação, o ar introduzido no sistema pela parte inferior da câmara é convertido em bolhas de ar que ao passarem pelo efluente, arrastam as partículas de gordura e a restante matéria em suspensão até á superfície. Por um mecanismo de raspagem superficial, a lama depositada á superfície é gradualmente removida, sendo esta a referida lama DAF (Figura 8).

Figura 8- Lamas DAF resultantes do processo de tratamento -*Dissolved Air Flotoation – DAF* (Retirada de: www.kensol.ie/)

Usualmente a estas lamas são atribuídas duas formas de disposição, são utilizadas como fertilizante para terrenos agrícolas ou depositadas em aterro como resíduos sólidos urbanos banais (INETI 2000). Outros destinos menos comuns consistem na sua aplicação para recuperação de taludes, encerramento de pedreiras, reparação de fendas no solo e fabrico de agregados leves (Sousa, 2005). Também se pode recorrer á sua aplicação na cobertura final de aterros sanitários, uma vez que favorecem a recuperação final da área e o crescimento da vegetação (Castilho Jr., 2003).

Do ponto de vista ambiental, a valorização agrícola de lamas, constitui a opção atualmente mais correta para a eliminação deste tipo de resíduo. Á semelhança do que acontece um pouco por toda a União Europeia, este é o destino mais comum atribuído (Sousa 2005; MAOTDR, 2007 - PEASAR II) Estas lamas constituem uma valiosa fonte de azoto e fósforo para os terrenos, embora em alguns casos seja necessário proceder á adição de potássio para proporcionar um bom equilíbrio de nutrientes, uma vez que a sua constituição depende do tipo de matéria prima laborada (Britz et al., 2006).

Usualmente, as lamas DAF não apresentam atividade patogénica ou metais pesados na sua constituição (Britz et al., 2006), pelo que se lhes atribui um grande valor como fertilizante. No entanto, a utilização das lamas DAF como fertilizante não pode ser encarada como solução absoluta para a sua disposição, uma vez que existe regulamentação, para a quantidade de lamas a ser aplicada como fertilizante, pois já que por lixiviação pode haver contaminação das fontes de água subterrâneas por nitratos (Britz et al., 2006). A acrescentar que a sua aplicação está condicionada por, além das suas próprias características, diversos factores como as

características dos solos recetores, topografia, tipo de solo, profundidade do nível freático, proximidade a áreas criticas e acessibilidade. (Sousa, 2005)

No contexto nacional, o Decreto-Lei nº 276/2009 , de 2 de Outubro, que vem revogar o anterior Decreto-Lei nº 118/2006, de 21 de Junho, regulamenta a utilização das lamas de depuração no contexto agrícola , transpondo para o regime jurídico português a Diretiva nº 86/278/CEE, do Conselho, de 12 de Junho, relativa à proteção do ambiente e, em especial, dos solos na utilização agrícola de lamas de depuração. O referido documento abrange todo o tipo de lamas de depuração, ou seja, lamas cuja proveniência advenha de estações de tratamento de águas residuais domésticas, urbanas, de atividades agropecuárias, de fossas sépticas ou outras de composição similar, como as que provêm do tratamento de efluentes de preparação e processamento de frutos, legumes, cereais, óleos alimentares, cacau, café, chá e tabaco, da produção de conservas, da produção e extracto de levedura, da preparação e fermentação de melaços ,do processamento do açúcar e da indústria de lacticínios.

As lamas DAF constituem um resíduo, à luz da legislação nacional e europeia em vigor, necessitando assim de ser devidamente eliminadas ou valorizadas (IGAOT 2008). No referido Decreto - Lei são definidos os valores limite que devem constar na composição das lamas de depuração para que realmente as mesmas sejam aplicadas como fertilizante, além dos próprios valores para os solos em que se efetiva a aplicação das mesmas. Tais parâmetros são relativos á presença de metais pesados, dioxinas e compostos orgânicos micropoluentes orgânicos, potencialmente tóxicos para a vida animal.

No entanto, as lamas DAF que cumpram os parâmetros requeridos por lei constituem fertilizantes valiosos, cuja correta aplicação nos solos se faz sem qualquer risco para a saúde e para o ambiente. São produtos biogénicos, isto é, geradores de vida, sendo designados por biossólidos. (Sousa, 2005). Ao nível nacional, os solos de forma generalizada apresentam um défice em termos de matéria orgânica e dos dois principais nutrientes para as plantas, o azoto e o fósforo, (Sousa 2005), o que valoriza e justifica a importância a utilização das lamas como fertilizante. Contudo, do ponto de vista de manipulação por parte do seu utilizador, a escolha das lamas como fertilizante torna-se pouco atrativa devido ao dificuldades associados ao seu manuseamento, armazenamento, risco de contaminação e também pelos fortes odores associados.

A opção pela deposição das lamas em aterro, à semelhança de outros resíduos, é regulamentada pela Diretiva Comunitária nº 1999/31/CEE, do Conselho, de 26 de Abril, que estabelece as medidas, processos e orientações sobre a deposição de resíduos em aterro, transposta para o regime jurídico nacional pelo Decreto-Lei nº 183/2009, de 10 de Agosto.

A deposição em aterro como destino final torna-se cada vez mais uma opção inviável para as lamas DAF. De facto, face ás medidas legislativas cada vez mais restringentes, em que se

pretende desqualificar os aterros como destino final para resíduos potencialmente valorizáveis ou recicláveis, nomeadamente os resíduos orgânicos, a eliminação das lamas torna-se inviável por este meio. Nesse sentido, sendo a valorização de resíduos uma das linhas base da política da União Europeia, na sequência da Diretiva 1999/31/CE do Conselho, de 26 de Abril, relativa á deposição em aterro, transposta pelo Decreto-Lei nº 152/2002, de 23 de Maio, são apresentados as considerações que objectivam o desvio da eliminação de resíduos urbanos biodegradáveis para aterro. A usualmente designada por Diretiva Aterros, implica a obrigatoriedade de reduzir até 75% a deposição de resíduos orgânicos em aterro sanitário até 2016, com base nos registos de 1995 e com data efetiva de contabilização a partir do ano 2006.

No entanto, no caso de as lamas DAF não ofereceram condições ao nível da sua composição em termos de substâncias nocivas ou na presença de metais que inviabilizam a sua utilização, o seu encaminhamento para aterro torna-se inevitável. Contudo, uma correta concepção e monitorização do processo de tratamento de lamas pode trazer melhorias significativas na sua qualidade viabilizando a sua valorização.

Numa visão geral, a valorização agrícola é o destino principal admitido para este tipo de resíduo e embora este procedimento se apresente como uma solução sustentável, tal como referido encontra-se amplamente condicionado. A produção de lamas na industria é constante mas a sua aplicação em termos agrícola é de carácter sazonal, uma vez que a sua aplicação apenas pode ser antes das sementeiras e após as colheitas e além disso a sua aplicação é restrita nas estações pluviais (Outono e Inverno) (Decreto-Lei nº 276/2009 , de 2 de Outubro). De tais factos advém a necessidade de armazenar enormes quantidades de lamas durante longos períodos o que confere, sob o ponto de vista de gestão, grandes dificuldades ás entidades responsáveis pelo licenciamento e gestão deste tipo de resíduo. (Ferreira 2009). Esta realidade traduz assim uma nova abordagem na procura de alternativas e desenvolvimento de tecnologias que dinamizem novos processos de tratamento e de utilização das lamas.

No presente contexto, a dissertação apresentada adquire assim um carácter atual e pertinente na temática direcionada a este tipo de resíduo, (lamas DAF), uma vez que promove uma nova forma de valorização das mesmas e vá assim ao encontro dos objectivos das atuais necessidades e politicas de gestão de resíduos.

2.2 A DIGESTÃO ANAERÓBIA

O desenvolvimento de tecnologias e de pesquisas orientadas para métodos sustentáveis que procurem mitigar os problemas de poluição ambiental, aliados ao indissociável factor económico, assumem um carácter essencial na atualidade. Uma das abordagens consideradas como eficaz e sustentável é a biotecnologia, em que por aplicação de técnicas biológicas se pretende a resolução ou minimização de situações de poluição. Deste modo dispõe-se de uma abordagem que possibilita o tratamento de resíduos com a recuperação dos respectivos subprodutos além da produção de biocombustíveis renováveis (Samir Khanal, 2008). O tratamento biológico amplifica assim os recursos disponíveis para a obtenção de um produto final passível de responder as exigências legislativas.

Um dos processos de degradação biológica amplamente utilizado em instalações de tratamento de águas residuais para a degradação e estabilização de lamas constitui a digestão anaeróbia (DA). Esta ocorre naturalmente em ecossistemas naturais e é o principal processo biológico que ocorre em aterros.

A DA representa, de modo geral, a degradação biológica realizada por um complexo ecossistema microbiológico, da matéria orgânica (substratos orgânicos e ocasionalmente inorgânicos), em condições de ausência de oxigénio, sendo que esta é convertida maioritariamente em metano (biogás), dióxido de carbono e em biomassa (Batstone, 1999). Ampliando as vantagens associadas á DA, o biogás formado representa um tipo de fonte energética renovável com origem em biomassa. Aliado ao conceito de biomassa, pode existir alguma dificuldade na sua compreensão. O termo biomassa, do ponto de vista de produção energética, é definido segundo a diretiva relativa á promoção da eletricidade produzida a partir de fontes de energia renováveis no mercado, como a "*fracção biodegradável de produtos e resíduos provenientes da agricultura (incluindo substâncias vegetais e animais), da silvicultura e das indústrias conexas, bem como a fracção biodegradável de resíduos industriais e urbanos*" (Diretiva 2001/77/CE). Do ponto de vista da ecologia, biomassa é a quantidade total de matéria viva existente num ecossistema ou numa população animal ou vegetal. Deste modo, embora intrinsecamente relacionadas, as definições diferem entre si.

2.2.1 Perspetiva histórica

Os processos de degradação anaeróbia tornaram-se preponderantes no tratamento biológico, no entanto á semelhança de outras tecnologias, a sua evolução dependeu de vários marcos ao longo do tempos até á atualidade, continuando a ser desenvolvidos estudos no intuito de alcançar novas potencialidades associadas á DA.

Historicamente, o conhecimento dirigido á DA remonta ao século X AC na Assíria e século XVI na Pérsia, existindo registos da utilização de biogás no aquecimento de águas. Mais tarde, no século XVII, surgem registos de Jan Baptita Van Helmont, que associou a decomposição de matéria orgânica à produção de gases inflamáveis. Já no século seguinte, em 1776, Alessandro Volta concluiu que existia uma relação direta entre o conteúdo de matéria orgânica degradada e a quantidade de gases produzida. Posteriormente, em 1808, Sir Humphry Davy, descobriu a presença de metano nos gases derivados da decomposição de excrementos de gado. (Lusk, 1998). Estas consideram-se as primeiras grandes descobertas que despertaram o interesse científico na área da DA.

A efetiva aplicação da DA de forma industrial teve lugar em Bombaim, na Índia, em 1859, com a criação do primeiro digestor anaeróbio. Alguns anos mais tarde, em 1895, numa ETAR em Exeter na Inglaterra, o biogás produzido foi recolhido e utilizado na iluminação pública. Na continuação do desenvolvimento de investigações dirigidas á DA, nos anos 30, Buswell e outros autores conduziram trabalhos de investigação que identificaram e documentaram as bactérias anaeróbias e as condições ambientais que promovem a produção de biogás (Lusk, 1998).

Na Europa, o processo de DA foi amplamente desenvolvido durante e após a 2º Guerra Mundial (1939-1945) devido á crise energética enfrentada. No entanto também outros factores potencializaram a DA, como o surgir de regulações ambientais e politicas governamentais (Lusk, 1998).

Apesar das referidas evoluções em torno da aplicabilidade e desenvolvimento da DA, existiram limitações, em parte devido ao facto de não existir o total conhecimento do seu processo. Uma mais valia no preponderante conhecimento da biotecnologia anaeróbia foi Stander que em 1950 reconheceu a importância do tempo de retenção de sólidos (SRT) no tratamento anaeróbio de diferentes efluentes. Este desenvolvimento levou a uma maior aplicação da biotecnologia anaeróbia, particularmente para tratamento de efluentes industriais e recuperação de biogás (Khanal, 2008).

Nos anos seguintes, os estudos relativos a DA intensificaram-se, desenvolvendo esta tecnologia em termos de recuperação de energia e redução da massa de resíduos sólidos orgânicos (Peres et al.,1991).

Com uma continua melhoria na compreensão dos processos anaeróbios em termos de microbiologia e embora lhe sejam associadas algumas desvantagens, o processo passou a ser cada vez mais amplamente utilizado. Algumas das vantagens apontadas a este tipo de tecnologia estão relacionadas com a remoção de nutrientes (nitrogénio e fósforo) e organismos patogénicos; ao fato de a carência química de oxigénio (CQO) residual ser, na maioria dos casos, elevada para atender os estritos limites de emissão estabelecidos na legislação ambiental; e à maior instabilidade dos reatores anaeróbios (Chernicharo, 2007).

A tabela seguinte (Tabela 2) pretende resumir o desenvolvimento histórico da DA, sendo que no entanto na atualidade, muitos são os estudos que lhe são direcionados, emergentes das cada vez mais numerosas restrições ambientais e da dependência energética sustentada pelo petróleo.

Tabela 2 - Desenvolvimento histórico da biotecnologia anaeróbia. (Fonte: Samir Khanal, 2008)

Tecnologia anaeróbia	Investigador(es) e local	Desenvolvimentos em ordem cronológica
Descoberta dos combustíveis ar-metano	A. Volta, Itália	Reconhecimento que a decomposição anaeróbica da matéria orgânica produz metano (1776)
Sistema Mouras Scavenger automático	M. L. Mouras, França	Patenteado em 1881, o sistema foi instalado na década de 1860.
Filtro anaeróbio	Massachusetts Experimental Station, Estados Unidos	Operação começou na década de 1880
Sistema híbrido -e digestor anaeróbico e filtro	W. D. Scott Moncrieff, Inglaterra	Construído por volta de 1890 ou 1891.
Fossa séptica	D. Cameron, Exeter, Inglaterra	Projetado em 1895, com possibilidade de recuperação de biogás para aquecimento e iluminação.
Tanque de eliminação de resíduos	A. L. Talbot, Estados Unidos Colônia de leprosos, Matunga, Bombaim, na Índia	Projetado em 1894 (Urbana); tanque de digestão com sistema de recolha de gás (1897).
Tanque Travis	W. O. Travis - ?	Desenvolvimento de um sistema de duas fases para uma digestão sólida separada (1904)
Tanque Imhoff	K. Imhoff, Alemanha	Tanque de Travis modificado (1905).
Digestão anaeróbia de alta carga	Morgan and Torpey	Desenvolvido digestor sistema de mistura (1950)
Clarigester (processos anaeróbios de carga elevada)	G. J. Stander, África do Sul	Importância do TRS (1950)
Processo de contato anaeróbio (*Anaerobic contact process* -ACP)	G. J. Schroepfer, Estados Unidos	Desenvolvimento de um processo similar ao ACP para o sistema aneróbico de lamas activado (1955)
Filtro anaeróbio *(Anaerobic filter - AF)*	J. C. Young e P. L. McCarty, Estados Unidos	AF reexaminado para o tratamento de águas residuais solúveis (1969)
Biorreator de membrana anaeróbio *(Anaerobic membrane bioreactor - AnMBR)*	H. E. Grethlein, Estados Unidos Dorr-Oliver, Estados Unidos	Uma membrana de fluxo cruzado externo acoplado com reactor anaeróbico (1978) Desenvolvido AnMBR em escala comercial no início de 1980.

Reator anaeróbio de leito de lamas	G. Lettinga, Holanda	Baseado em sua primeira observação de lama granular em Clarigester na África do Sul (1979)
Elementos-traço para metanogénese	R. Speece, Estados Unidos	Relataram a importância de elementos-traço para a atividade metanogénica (1983)
Reator anaeróbio sequencial *(Anaerobic sequential batch reactor -ASBR)*	R. Dague e S. R. Pidaparti, Estados Unidos	Desenvolvimento do ASBR para o tratamento de dejetos de suínos (1992)

2.2.2 Microbiologia e bioquímica

O processo anaeróbio constitui um processo bioquímico complexo composto por várias reações sequenciais, cada uma com população bacteriana específica, em que a matéria orgânica é degradada resultando numa ação sinérgica (Khanal, 2008). A cada um desses estágios bioquímicos estão associados três diferentes grupos de microrganismos principais, responsáveis pela decomposição da matéria orgânica em metano, dióxido de carbono e pequenas concentrações de hidrogénio, que são as bactérias acidogénica (ou fermentativas), as acetogénicas (ou sintróficas) e as metanogénicas. (Chernicharo, 2005).

Estes microrganismos pertencem assim a um conjunto de processos metabólicos presentes na DA e que podem ser distinguidos em 6 etapas (Figura 9).

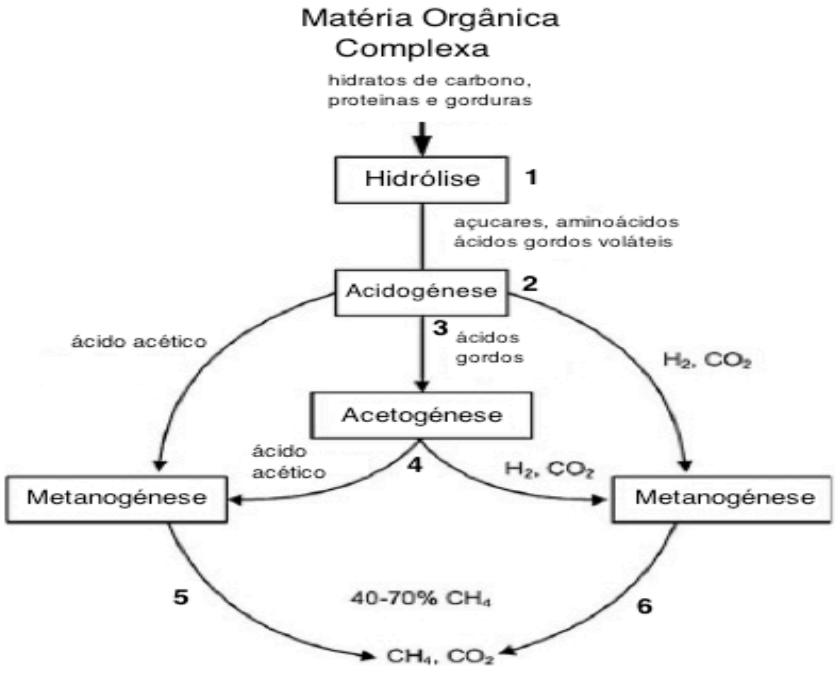


Figura 9 - Processo da degradação da matéria orgânica através da digestão anaeróbia (Adaptado de Y. Li et al. 2010

Cada uma das seis etapas apresentadas na Figura 8 representa respectivamente:

1. Hidrólise de biopolímeros incluindo proteínas, hidratos de carbono e lípidos que são convertidos nos seus monómeros, respectivamente aminoácidos, açucares e ·ácidos gordos de cadeia longa;
2. Fermentação de aminoácidos e açucares;
3. Oxidação anaeróbia dos ·ácidos gordos de cadeia longa
4. Oxidação anaeróbia dos produtos intermediários (ácidos voláteis, com exceção do acetato) a acetato e hidrogénio;
5. Conversão de acetato a metano pelas bactérias acetoclásticas;
6. Conversão do hidrogénio a metano pelas bactérias hidrogenotróficas.

De uma forma mais generalizada, estas etapas podem ser agrupadas em quatro etapas: a hidrólise, fermentação, acidogénese e metanogénese, que serão abordadas nos subcapítulos seguintes.

2.2.2.1 Hidrólise

A denominada hidrólise ou fermentação hidrolítica, constitui a primeira das quatro etapas da DA. No âmbito da DA a hidrólise é considerada como sendo o processo pelo qual o material orgânico presente no sistema é transformado em compostos dissolvidos de menor peso molecular (Silva, 2009). Na hidrólise, os materiais orgânicos complexos são decompostos nas suas partes constituintes, resultando em monómeros solúveis (Ostrem, 2004), que serão utilizados posteriormente na acidogénese. Deste modo, esta fase é crucial uma vez que possibilita que a matéria orgânica seja utilizada nas fases subsequentes.

Na hidrólise as proteínas são convertidas em aminoácidos, as gorduras em ácidos gordos, o glicerol em triglicéridos e os hidratos de carbono complexos, (tais como polissacáridos, celulose, lignina, amido e fibra) convertidos em açúcares simples, (como a glucose) (Ostrem, 2004). Mais especificamente, ocorre solubilização da matéria orgânica mediante a presença da água, em que ocorre a reação de um ião (M+ ou L-) com água, formando uma substância associada e resultando na liberação de iões H+ ou OH- conforme as equações seguintes (1 e 2) (Silva, 2009):

$$M^+ + H_2O \rightarrow MOH + H^+ \quad (1)$$

$$L^- + H_2O \rightarrow HL + OH^- \quad (2)$$

A hidrólise é catalisada por enzimas excretadas a partir de bactérias, tais como a celulase, protéase, lípase. Se a matéria-prima é complexa, a fase de hidrólise é relativamente lenta (Ostrem, 2004).

Segundo Mata-Alvarez (2003) citado por Ostrem (2004), já os hidratos de carbono, por outro lado, são conhecidas por serem mais rapidamente convertidos por hidrólise a açúcares simples e, subsequentemente, por fermentação, a ácidos gordos voláteis (AGV). Para uma mistura de resíduos orgânicos podemos considerar como fórmula química aproximada $C_6H_{10}O_4$ (Themelis, Kim e Brady, 2002), pelo que a reação de hidrólise de resíduos orgânicos resulta um açúcar simples, neste caso, a glicose e pode ser representada pelo seguinte equação (3):

$$C_6H_{10}O_4 + 2H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \quad (3)$$

Nesta fase a conversão de materiais particulados em materiais dissolvidos é conseguida através da ação de exoenzimas excretadas pelas bactérias fermentativas hidrolíticas (Rodrigues, 2008).

2.2.2.2 Acidogénese

Os produtos solúveis provenientes da fase da hidrólise são metabolizados no interior das células das bactérias fermentativas, sendo convertidos em diversos compostos mais simples, os quais são então excretados pelas células (Rodrigues, 2008).

Neste processo, as bactérias acidogénicas transformam os produtos de hidrólise em compostos orgânicos simples, de cadeia curta na maior parte (voláteis) (por exemplo, ácidos, propiónico, fórmico, láctico, ácidos butírico, ou succínico), cetonas (por exemplo, etanol, metanol, glicerol, acetona,) e álcoois (Ostrem, 2004). Assim os compostos hidrolisados são fermentados em AGV, compostos neutros (metanol, etanol), sendo que o valor de pH diminui á medida que os níveis destes compostos aumentam (Evans, 2001). O dióxido de carbono e hidrogénio formados, são também diretamente proporcionais como resultado do catabolismo dos hidratos de carbono (Chaudhary 2008).

Como reações típicas nas fases de formação de ácidos temos as apresentadas de seguida em que a equação 4 e 5 respectivamente, são referentes á glicose que é convertida em etanol e á glicose que é transformada em propionato.

$$C_6H_{12}O_6 \leftrightarrow 2\ CH_3CH_2OH + 2CO_2 \quad (4)$$

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \leftrightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2\ H_2O \quad (5)$$

Os grupos de microrganismos responsáveis pela conversão biológica presente na acidogénese constituem os anaeróbios obrigatórios e as bactérias facultativas (Chaudhary 2008). Os microrganismos fermentativos são os primeiros a atuar na degradação do substrato, e são os que mais se beneficiam energeticamente. Como os ácidos orgânicos são o principal produto dos microrganismos fermentativos, estes são usualmente designados por bactérias fermentativas acidogénicas (Rodrigues, 2008).

2.2.2.3 Acetógenese

A terceira etapa do processo de DA é a acetógenese, fase a qual muitas vezes considerada como acidogénese uma vez que é formado o ácido acético (Evans, 2001; Ostrem, 2004). Deve-se a este facto, a existência de algumas referencias a apenas três estágios bioquímicos ao invés dos quatro apresentados em literatura relacionada com a DA. No entanto devido á cada vez maior importância atribuída a esta fase, uma vez que se considera que o produto final da acetógenese, o acetato, seja o principal percursor do biogás, esta é diferenciada.

Assim, a acetógenese corresponde à fermentação de hidratos de carbono, do qual resulta o acetato entre outros processos metabólicos (Ostrem, 2004). As moléculas simples da acidogénese são assim digeridas para produzir dióxido de carbono, hidrogénio e, principalmente, o ácido acético (Chaudhary 2008).

Segundo Ostrem (2004), o hidrogénio como intermediário apresenta uma importância fundamental para as reações da DA. Os ácidos gordos de cadeia longa, formados a partir da hidrólise de lípidos, são oxidados (para o acetato ou propionato) e é formado hidrogénio sob a forma de gás. Sob condições normais, a presença de hidrogénio na solução inibe a oxidação. A reação prossegue apenas se a pressão parcial de hidrogénio é suficientemente baixa para permitir a conversão termodinamicamente. A presença de bactérias que consomem hidrogénio, permitem reduzir a pressão parcial do hidrogénio, o que é necessário para assegurar a viabilidade termodinâmica e, assim, a conversão de todos os ácidos. (Ostrem, 2004). A equação seguinte (6) apresenta a conversão de propionato a acetato:

$$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \leftrightarrow CH_3COO^- + H^+ + HCO_3^- + 3H_2 \quad (6)$$

Nesta fase, o grupo de microrganismos que oxidam os produtos resultantes da fase acidogénica constituem as chamadas bactérias acetogénicas.

A fase acetogénica ocorre em duas etapas: a desidrogenação acetogénica e a hidrogenação acetogénica. Durante a desidrogenação acetogénica atuam as bactérias acetogénicas produtoras de hidrogénio, como as que degradam o propionato, e o butirato, entre outras. As bactérias acetogénicas produtoras de hidrogênio utilizam ácidos de cadeias maiores que o acético para produzir ácido acético, dióxido de carbono e hidrogênio a baixas pressões de hidrogênio (Rodrigues, 2008).

2.2.2.4 Metanogénese

A metanogénese corresponde á última etapa do processo de degradação anaeróbia e envolve a produção de metano e dióxido de carbono a partir da matéria orgânica da etapa anterior. O metano é produzido a partir de um certo número de substâncias simples: o ácido acético, metanol ou dióxido de carbono e hidrogénio (Ostrem, 2004). Entre estas substâncias, o ácido acético e o acetato são os mais importantes, uma vez que cerca de 75% do metano produzido é derivado do acetato (Evans, 2001).

Na metanogénese a degradação anaeróbia de compostos orgânicos é efetuada pelos microrganismos metanogénicos, atualmente classificados dentro do domínio Archaea, um grupo reconhecido como distinto das consideradas bactérias típicas (Rodrigues, 2008). O seu crescimento é considerado como mais lento do que as bactérias intervenientes nas fases anteriores (Chaudhary 2008).

Estes microrganismos convertem a matéria solúvel em metano, a qual é derivada da conversão do acetato (cerca de dois terços) (7 e 8) ou da fermentação de um álcool, (9), e um terço é o resultado da redução de dióxido de carbono por hidrogénio (10) (Ostrem, 2004):

$$2\,CH_3CH_3OH + CO_2 \leftrightarrow 2\,CH_3\,COOH + CH_4 \quad (7)$$

$$CH_3COOH \leftrightarrow CH_4 + CO_2 \quad (8)$$

$$CH_3OH + H_2 \leftrightarrow CH_4 + H_2O \quad (9)$$

$$CO_2 + 4H_2 \leftrightarrow CH_4 + 2H_2O \quad (10)$$

Acidogénese anaeróbia de lamas DAF na produção de biopolímeros

As bactérias metanogénicas podem ser divididas em dois grupos de acordo com a fonte que utilizam para formar metano, as acetoclásticas e as hidrogenotróficas (Rodrigues, 2008; Chaudhary 2008). As bactérias metanogénicas acetoclásticas utilizam o ácido acético para a formação de metano enquanto que as bactérias metanogénicas hidrogenotróficas produzem metano a partir do dióxido de carbono e do hidrogénio. (Chaudhary 2008; Rodrigues, 2008). Os microrganismos metanogénicos acetoclásticos são considerados como os grandes responsáveis pela produção de metano, com cerca de 70% do total de metano formado durante a DA (McCarthy (1964).

A fase da metanogénese é considerada como limitante de todo o processo de DA, devido em parte á já referida baixa taxa de crescimento das microrganismos metanogénicas, mas principalmente devido as metanogénicas acetoclásticas uma vez que são as responsáveis pela maior percentagem de produção (Rodrigues, 2008).

Com o intuito de proporcionar uma melhor compreensão dos processos envolvidos na DA e reconhecendo a importância declarada á compreensão dos fenómenos presentes, acrescentando á informação já apresentada no diagrama dos processos de conversão na DA (Figura 9), a figura seguinte (Figura 10) apresenta o diagrama explicitando o que cada tipo de substrato origina.

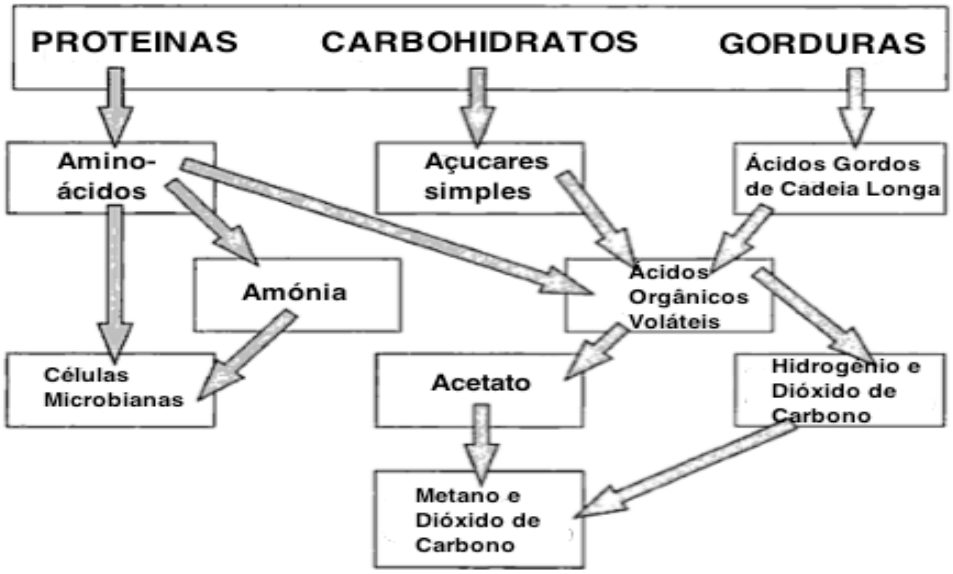


Figura 10 - Diagrama simplificado de desassimilação de substrato na digestão anaeróbia. (Adaptado de Evans 2001, Biowaste and biological waste treatment)

Deste modo, todas estas fases decorrem em simultâneo e de forma sinérgica (Ostrem, 2004).

2.2.3 Factores que interferem na DA

A estabilidade de um sistema de tratamento anaeróbio é frequentemente debatida, principalmente devido a natureza frágil dos microrganismos face a mudanças nas condições ambientais, tais como pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes, toxicidade e condições redox ótimas (Khanal, 2008). Outros autores referenciam outros parâmetros importantes como o tempo de retenção, a carga orgânica e hidráulica, a competição bacteriana, relação C / N , concentração de AGV e teor em sólidos (Ostrem, 2004; Rodrigues, 2008; Chaudhary 2008).

Os parâmetros de funcionamento do digestor devem deste modo ser monitorizados de modo a aumentar a atividade microbiana e, assim, aumentar a eficiência da degradação anaeróbica do sistema (Chaudhary 2008).

O efeito dos factores ambientais sobre a eficiência do tratamento é normalmente avaliado pela produção de metano (Khanal, 2008). Este facto deve-se á grande sensibilidade que os microrganismos intervenientes nesta fase apresentam perante variações ambientais. Deste modo, a metanogénese constitui, como já anteriormente referido, uma fase limitante no processo da DA, pelo que a interferência dos principais fatores ambientais deve ser orientada com base nesta etapa.

Um sistema de tratamento anaeróbio é muito mais sensível do que o aeróbio para o mesmo grau de desvio das condições ambientais óptimas (Khanal, 2008). Deste modo, embora as vantagens associadas a este tipo de processo, o conhecimento requerido ao nível de microbiologia torna-se bastante mais complexo, tendo sido o desenvolvimento do conhecimento neste sentido o factor que historicamente possibilitou que a DA fosse mais amplamente utilizada até aos dias de hoje.

Reconhecida a importância em termos dos factores que intervêm na DA, são expostos alguns parâmetros de seguida para uma melhor compreensão do seu papel interveniente neste processo.

2.2.4 pH e alcalinidade

O pH e a alcalinidade são dois parâmetros que se encontram intrinsecamente relacionados. A alcalinidade constitui um parâmetro importante na digestão anaeróbia uma vez que permite avaliar a capacidade de tamponamento do sistema, ou seja, a capacidade de este resistir a mudanças de pH (Chaudhary 2008; Rodrigues 2008). Apresentando as bactérias anaeróbias uma grande vulnerabilidade face a estas alterações, a alcalinidade é assim um factor importante e de interesse no presente estudo pelo seu efeito tampão, possibilitando que um grande aumento de ácidos orgânicos voláteis possa ocorrer com uma queda mínima de pH

(McCarty 1964).

Tal associação entre o pH e a alcalinidade revela-se importante, uma vez que permite o equilíbrio no digestor. Tal como já referido, a metanogénese é considerada como limitante no processo de DA pelo que, uma vez que nesta fase as bactérias acidogénicas e as metanogénicas estão presentes, é fulcral ter em consideração o pH ótimo para cada uma destas culturas de microrganismos. Segundo Khanal (2008), para as bactérias acidogénicas os valores de pH ideal situam-se entre 5,5 e 6,5, sendo que para as metanogénicas este intervalo é de 7,8 a 8,2.

Assim, segundo o mesmo autor, uma vez que os referidos grupos de microrganismos coexistem, é necessário manter o pH próximo da neutralidade (pH=7). Os microrganismos metanogénicos são sensíveis à concentração de ácido no interior do digestor e o seu crescimento pode ser inibido por condições ácidas (Chaudhary 2008). Deste modo, uma vez que a acidogénese pode levar à acumulação de grandes quantidades de ácidos orgânicos, resultando em pH ácido (Ostrem, 2004), torna-se importante a redução do pH que é possível pela adição de cal (Chaudhary, 2008). Já na fase da metanogénese, verifica-se o aumento pH, pelo que é nesta variação de pH que a alcalinidade é preponderante. Deste modo, um pH estável indica equilíbrio e estabilidade do sistema (Ostrem, 2004).

No entanto, uma vez que no presente trabalho se objectiva a acidificação das lamas DAF, os valores de pH devem-se situar abaixo de pH 7, de modo a proporcionar uma acumulação de AOV, ou seja, possibilitar uma continua produção de ácidos com a consequente formação de metano (metanogénese) interrompida (Yu e Fang, 2002). Foresti (1993), afirma que o pH ótimo para a digestão anaeróbia é de 6.8 - 7.5. embora o processo possa ocorrer de forma bem sucedida para um limite de 6.0 - 8.0.

Enquadrado com a dissertação apresentada, Yu e Fang (2002) avaliaram a acidogénese de efluentes lácteos para pH entre 4 e 6,5 (T=37ºC) tendo constatado que a degradação de poluentes lácteos aumentou com o pH de pH 4,0 a 5,5 e sendo que a pH 5,5, 95% de hidratos de carbono, 82% de proteína e 41% de lípidos foram degradados. Além disso, 48,4% dos poluentes lácteos foram convertidos em AOV e álcoois, 6,1% em hidrogênio e metano (biogás), e 4,9% em biomassa. Determinaram também que ao nível dos produtos de acidificação o pH é importante, sendo que a produção de acetato é beneficiada para pH> 5,5 e a de butirato para pH< 5,5.

2.2.5 Temperatura

Os processos anaeróbios, como outros processos biológicos, dependem fortemente temperatura (Khanal, 2008). Os microrganismos não possuem forma de controlar a sua temperatura interna, pelo que assim, a temperatura no interior da sua célula é determinada pela temperatura ambiente externa (Rodrigues, 2008). A temperatura também afeta consideravelmente

a taxa de crescimento. No tratamento anaeróbio, a lenta velocidade de crescimento dos microrganismos, constitui um factor critico o que torna a temperatura factor preponderante na DA (Soares, 2010).

Considerando a já referida importância da metanogénese para a DA, considera-se que num sistema anaeróbio existem três faixas de temperatura ideais para metanogénese: psicrófílica (<20ºC), mesofílica (20-45ºC) e termofílica (>45ºC) (Khanal, 2008), sendo que a conversão anaeróbica da matéria orgânica tem a sua máxima eficácia, a uma temperatura 35- 40ºC para condições mesofílica,com uma temperatura óptima a 35 ºC, (Ostrem, 2004; A. Khalid et al, 2011) e em cerca de 55ºC para as condições termofílicas (van Haandel e Lettinga 1994).

A digestão termofílica permite cargas mais elevadas e atinge uma maior taxa de destruição de organismos patogénicos, bem como uma maior taxa de degradação do substrato. É, no entanto, mais sensível a toxinas e alterações menores no ambiente e é menos atraente do ponto de vista energético. As bactérias que operam na gama mesofílica são mais resistentes e podem tolerar maiores alterações nos parâmetros ambientais, incluindo a temperatura. (Ostrem, 2004). Este facto torna a gama mesofílica mais vantajosa sob este ponto de vista da sua maior estabilidade sendo que também tem menores custos em termos energéticos (Khalid et al, 2011).

Relativamente a esta dualidade entre a gama mesofílica e termofílica, Yu et al. (2002) estudaram a influência da temperatura na acidogénese de um efluente de lacticínios (reatores UASB). Para as duas temperaturas testadas, 37ºC e 55ºC, respectivamente mesofílica e termofílica, a pH constante (5,5) constataram que não existiam diferenças em termos do grau de acidificação e de remoção de CQO para as cargas orgânicas testadas entre 4 a 24 gCQO/L.dia.

2.2.6 Necessidades nutricionais

Um dos problemas principais associados com a estabilidade de um processo de DA é determinado pelas necessidades nutricionais das bactérias intervenientes. As deficiências nutricionais podem levar a uma incompleta bioconversão dos substratos orgânicos, causando uma instabilidade no sistema e até a própria falha do digestor. (Kayhanian e Rich, 1995).

Para que a DA ocorra é assim necessário a presença de macro e micronutrientes. Em particular, o azoto (N) e o fósforo (P) constituem um dos macronutrientes considerados como essenciais para todos os processos biológicos metanogéncos, sendo que a sua quantidade, em relação à matéria orgânica presente, depende da eficiência dos microrganismos em obter energia para síntese, a partir das relações bioquímicas de oxidação do substrato orgânico (Soares, 2010). O azoto é considerado essencial para a síntese de proteínas e principalmente como um nutriente requerido pelos microrganismos em digestão anaeróbia (Kayhanian e Rich, 1995). Dentro dos micronutrientes considerados essenciais, destacam-se o ferro, o cobalto, o níquel e o zinco

(Soares, 2010). De um modo resumido, encontram-se nas duas seguintes tabelas (Tabela 3 e 4) os principais macro e micronutrientes respectivamente, além das funções atribuídas na DA.

Tabela 3 - Funções dos micronutrientes na digestão anaerobia (Adaptado de Kayhanian e Rich, 1995)

Nutrientes	Funções	Observações
Cobalto, Co	Corrinóides CODH	CODH desempenham um papel essencial na atividade acetogénica (acetato de formação).
Cobre, Cu	Hidrogenase, SODH	O cobre tem sido encontrado na análise de muitas estirpes de microrganismos metanogénicos. O cobre pode ser um componente em super dismutase (SODH) e hidrogenase.
Ferro, Fe	CODH, precipitação	O Ferro tem sido encontrado presente no tecido de metanogénicos em concentrações mais elevadas do que o de qualquer outro metal pesado. Desempenha várias funções em processos anaeróbios, principalmente devido à sua capacidade extremamente grande de redução.
Molibdénio, Mo	FDH, inibe redutores de enxofre	Molibdénio está presente na enzima desidrogenase comum no formato (FDH). No entanto, o molibdénio pode também inibir bactérias redutoras de sulfato, o que limita a formação de sulfuretos necessários.
Niquel, Ni	CODH, síntese de F430, essencial para a bactérias redutoras de sulfato, auxilia a conversão de C02/H2	Muitas bactérias anaeróbias são dependentes de níquel, quando o dióxido de carbono (CO2) e hidrogénio (H2) são as únicas fontes de energia. A maioria de níquel é absorvido pelas células, em um composto denominado factor F 430 (F430). O F430, foi encontrado em todos as bactéria metanogénicas já examinadas.
Selénio, Se	Metabolismo de ácidos gordos, *Fatty Acid metabolism* - FDH	O selénio é um componente de várias enzimas bacterianas anaeróbias e certos ácidos nucleicos bacterianos. Uma enzima de selênio comum em bactérias anaeróbicas é desidrogenase de formato (FDH). As enzimas dependentes de selénio tendem a ser muito reativas a um pH neutro, têm um baixo potencial redox, e podem ajudar a metabolizar os ácidos gordos.
Tungsténio, W	FDH, pode auxiliar a conversão de substratos de CO2/H2	Tungsténio (ou Volfrâmio) é também um componente da enzima FDH. É possível que o tungsténio auxilie o metabolismo de CO2 e H2, de um modo semelhante ao níquel.
Zinco, Zn	FDH, CODH, hidrogenase	Zinco, como cobre, está presente em concentrações relativamente elevadas em muitos organismos metanogénicos. Pode ser parte de FDH, SODM, e hidrogenase. O zinco não foi ainda provado ser um metal essencial.

CODH = a enzima desidrogenase de monóxido de carbono

SODM = a enzima super dismutase

FDH = a enzima formato desidrogenase

Tabela 4 - Funções dos macronutrientes na digestão anaeróbia (Adaptado de Kayhanian e Rich, 1995)

Nutrientes	Funções	Observações
Carbono, C	energia, material celular	O carbono é a base da construção de material da célula bacteriana e é a fonte primária de energia. Os substratos orgânicos são ricas em carbono, pelo que o carbono não será geralmente um nutriente limitante. Em vez disso, as proporções de carbono para azoto (C / N), fósforo (C / P) e potássio (C / K), podem definir os requisitos nutricionais.
Azoto, N	síntese proteica	O azoto é o nutriente primário necessário para a síntese microbiana. Azoto ocorre no material da célula, sob a forma reduzida, (R-NH2) essencial para a síntese de proteínas.
Fósforo, P	síntese nucleica ácida	A exigência de fósforo para síntese bacteriana são geralmente muito menos do que as do azoto ou de carbono. Fósforo auxilia na síntese de ácidos nucleicos.
Potássio, K	permeabilidade da parede celular	O potássio aumenta a permeabilidade da parede celular, auxiliando o transporte celular de nutrientes e proporcionando equilíbrio de catiões.
Enxofre, S	para numerosas enzimas	Os requisitos de enxofre para as metanogénicas são bastante complexos, porque podem usar apenas certas formas de enxofre. Geralmente, enxofre terá a forma não reduzida de sulfatos ou a forma reduzida de sulfuretos. Os sulfatos podem inibir a metanogénese porque nesta apenas se pode usar uma forma totalmente reduzida da redução do enxofre e o sulfato é considerado limitante da velocidade. A forma de sulfureto de enxofre, no entanto, tem sido demonstrado ter efeitos estimuladores de crescimento para vários organismos metanogénicos. O sulfeto é requerido em várias enzimas, incluindo o monóxido de carbono desidrogenase (CODH) e desidrogenase de formato (FDH).

2.2.7 Toxicidade e inibição

A toxicidade representa uma maior problemática associada a DA do que aos sistemas aeróbios. Tal deve-se ao facto de usualmente as concentrações de matéria orgânica tratadas por DA serem maiores e assim consequentemente, as concentrações de outras substâncias, incluindo as que provocam inibição, sejam também maiores (Santos, 2010). Além disto, Santos (2010) afirma que como as taxas de crescimento dos microrganismos são mais baixas, o tratamento anaeróbio tem associado um maior risco ou seja, o nível de segurança em termos biológicos que é aceitável, é mais baixo.

Como principais agentes tóxicos na DA, são considerados o amoníaco, os sulfatos/sulfetos, os metais pesados, metais alcalinos e alcalinos terrosos e o oxigênio (Rodrigues

2008, Gerardi, 2003). Contudo, alguns compostos orgânicos que poderiam ser considerados tóxicos, são efetivamente degradados por alguns microrganismos anaeróbios, tornando a DA uma mais valia na possibilidade da sua aplicação para tratamento de efluentes com concentrações significativas de compostos tóxicos (Khanal, 2008).

A formação de produtos intermediários tais como ácidos gordos voláteis pode causar toxicidade ao provocar um pH adverso (van Haandel e Lettinga, 1994). Tal como referido anteriormente, a metanogénese constitui uma fase critica da DA. Os microrganismos envolvidos nesta fase devido ás características únicas da sua parede celular, apresentam uma elevada sensibilidade á toxicidade causada por muitos ácido gordos, acrescendo o facto de que não dispõem de invólucro celular, que atua como elemento protetor (Gerardi, 2003).

Os indicadores de toxicidade podem surgir de uma forma rápida ou lenta, dependendo do tipo de toxicidade e das respectivas concentrações. Estes incluem o desaparecimento de hidrogénio e de metano, a diminuição da alcalinidade e do pH e o aumento das concentrações de AOV (Gerardi, 2003), como o ácido propiónico que sendo superior a 900 mg/L confere elevada toxicidade inibindo a metanogénese (Wang et al (2009).

Como principais compostos ou grupo de compostos que apresentam toxicidade ou são inibidores na DA temos os apresentados na tabela seguinte (Tabela 5):

Tabela 5 –Principais compostos ou grupos de compostos químicos que apresentam toxicidade ou são inibidores da digestão anaeróbia (Adaptado de Ferreira 2009).

Composto	Microrganismos afectados	Concentração tolerada (mg/l)	Observações
Oxigénio	Metanogénicos	0	As metanogénicas são anaeróbias estritas.
Amoniaco (NH3)	Metanogénicos	1500 - 3000	Inibição baixa com o pH e com o aumento da idade das lamas.
Hidrocarbonetos Halogenados	Metanogénicos	<1	Inibição total.
Compostos de Benzeno	Metanogénicos	---	Composto mais tóxico. A ordem de inibição: nitrofenóis > clorofenóis > hidroxifenóis.
Formaldeído	Metanogénicos	10	A 100 ppm, inibição severa.

Ácidos Voláteis	Metanogénicas Acidogénicas	---	A pH ≈ 7.0: Ácido acético e butírico – baixa toxicidade. Ácido propiónico >900 mg/L (Wang et al.,(2009)– elevada toxicidade
AGCL	Acetoclásticas	---	Os ácidos gordos de cadeia longa (caprílico, cáprico, láurico, mirístico e oleíco(1)) inibem a actividade das acetoclásticas.
Metais pesados	---	---	A ordem de inibição : Ni > Cu > Cd >Cr > Pb, quanto maior a afinidade do metal pela lama menor é a toxicidade. Formam precipitados insolúveis com os sulfuretos.
Cianeto	Metanogénicas	---	Inibição depende da concentracção da biomassa, idade lamas e temperatura.
Sulfuretos	Metanogénicas	150 - 200	Um dos inibidores mais potentes, afecta principalmente as bactérias metanogénicas que convertem o hidrógénio. Pode ser minimizado, controlando o pH.
Taninos	Metanogénicas	---	Os galotaninos são extremamente tóxicos para as bactérias metanogénicas.
Salinidade	---	---	Pode ser corrigida com a adição de sais de potássio.

A população anaeróbia tem uma grande capacidade de adaptação a cargas tóxicas, mas é necessário tempo para que o seu funcionamento seja normal. Alguns microrganismos são menos susceptíveis que outros a certos compostos que produzem inibição o que torna difícil tirar conclusões sobre as concentrações tóxicas de certas substâncias (Santos, 2010).

3 A ACIDOGÉNESE ANAERÓBIA NA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS VALORIZÁVEIS – BIOPOLÍMEROS

3.1 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

O desenvolvimento de polímeros biodegradáveis constitui uma temática importante na atualidade, devido em parte, às grandes preocupações associadas aos plásticos convencionais, designados por polímeros sintéticos. Os polímeros sintéticos são produzidos a partir de recursos não-renováveis, como petroquímicos, e não são compatíveis com os ciclos naturais de carbono devido às suas características não-degradáveis (Chua et al. 2003). Além disso, devido ás suas características, que lhes conferem uma elevada permanência no ambiente natural, são associados a graves problemas de poluição.

A incorporação dos plásticos no dia-a-dia verifica-se como massiva devido às suas qualidades, como custos e facilidade de processamento, versatilidade e durabilidade. De 2009 a 2010, a produção mundial de plásticos aumentou 15 milhões de toneladas para 265 milhões de toneladas (6%), confirmando a tendência de longo prazo de crescimento da produção de plásticos de quase 5% ao ano nos últimos 20 anos. Em 2010, a Europa representou 57 milhões de toneladas (21,5%) da produção mundial e China ultrapassou a Europa como a região de maior produção em 23,5% (Plastics Report 2011) (Figura 11).

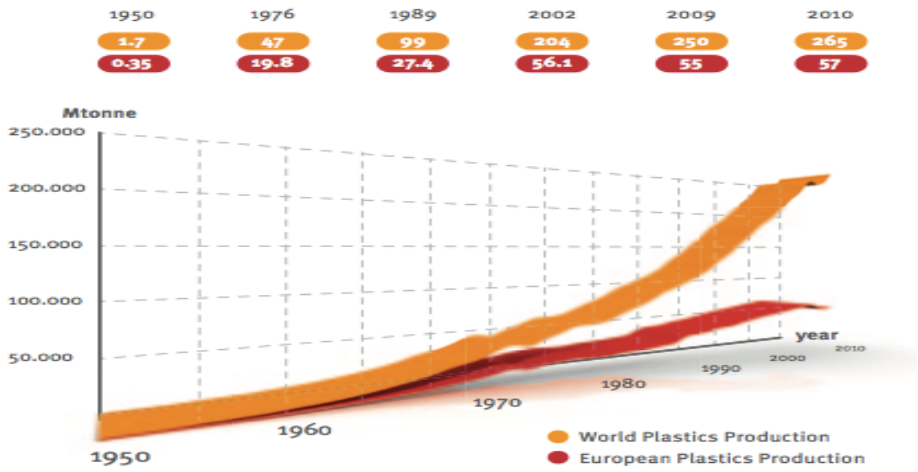


Figura 11- Produção Mundial de plásticos de 1950 a 2010. (Fonte: Plastics Report 2011- www.plasticseurope.org)

A efetiva presença dos plásticos sintéticos ao nível mundial motiva assim a procura de soluções e alternativas para a sua gestão como resíduo, optimizando a redução do consumo na fonte, a própria reutilização e adequado confinamento. A reciclagem cada vez mais se torna presente no comportamento social, no entanto há limitação para a quantidade de vezes que um material pode ser reciclado. A também constante controvérsia sobre o facto de a reciclagem poder abranger muitos mais gastos e impactes ambientais que os associados à simples gestão do próprio resíduo, torna-a menos aceite socialmente. Embora os valores de reciclagem tenham aumentado, estes permanecem baixos (Plastics Report 2011) (Figura 12).

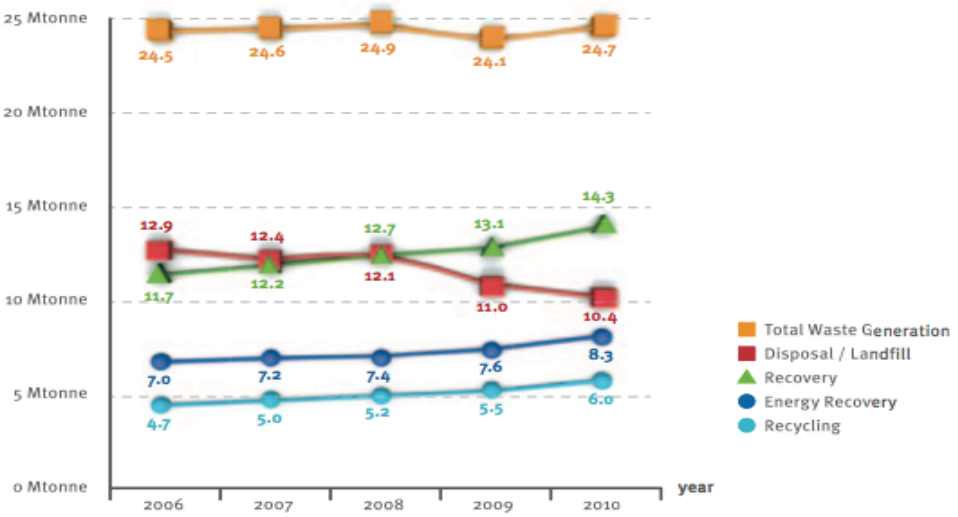


Figura 12 - Reciclagem e recuperação total de plásticos entre 2006 e 2010. (Fonte: Plastics Report 2011 - www.plasticseurope.org

A percepção dos problemas associados aos plásticos tem cada vez mais presença na opinião pública. Deste modo o desenvolvimento de materiais inovadores que procurem diminuir a dependência de combustíveis fósseis e reduzir os problemas associados à eliminação de resíduos sólidos, surge como uma necessidade cada vez mais sustentada pelas presentes problemáticas ambientais.

O desenvolvimento de materiais inovadores biopoliméricos decorre há uma série de anos, e continua a ser uma área de interesse para muitos cientistas (Kolybaba et al. 2003). Como material polimérico define-se todo o material sólido, não-metálico e de elevado peso molecular, sendo formado pela repetição de macromoléculas, que são constituídas por dois elementos, carbono e hidrogénio, agrupadas em unidades estruturais que se repetem, os monómeros (Kolybaba et al. 2003).

Os polímeros biodegradáveis, por sua vez, são polímeros nos quais a degradação resulta da ação de microrganismos como bactérias, fungos e algas, podendo ser consumidos em semanas ou meses sob condições favoráveis de biodegradação (Brito et al. 2011). A biodegradação é regida por diversos fatores que incluem as próprias características do polímero (como o peso molecular, o tipo de grupos funcionais e dos substituintes presentes na sua estrutura, plastificantes ou aditivos) e tipos de organismos presentes na sua degradação (Shah et al. 2008). Durante a degradação o polímero é primeiro convertido para os seus monómeros, em seguida, estes monómeros são mineralizados, sendo que este processo está sujeito a condições especificas em termos de pH, humidade, oxigenação e a presença de alguns metais.

Os polímeros biodegradáveis podem ser provenientes de fontes naturais renováveis como milho, celulose, batata, cana-de-açúcar, ou serem sintetizados por bactérias a partir de pequenas

moléculas como o ácido butírico ou o ácido valérico dando origem respectivamente ao polihidroxibutirato – PHB e ao polihidroxibutirato-co-valerato – PHB-HV, ou até mesmo serem derivados de fonte animal, como a quitina ou proteínas (Brito et al. 2011). No entanto, outros polímeros biodegradáveis podem também ser obtidos da mistura entre biomassa e petróleo ou somente diretamente de fontes fósseis, sendo os mais conhecidos as policaprolactonas – PCL, as poliesteramidas, os copoliésteres alifáticos e os copoliésteres aromáticos (Brito et al. 2011). De acordo com a sua origem, ou seja, a sua fonte de obtenção, os polímeros biodegradáveis podem ser classificados em quatro categorias (Bordes et al. 2009; Avérous et al. 2008):

a) os polímeros obtidos a partir de biomassa (fontes renováveis), tais como os polímeros de agro-recursos, como por exemplo, amido, celulose;

b) os polímeros obtidos por microrganismos, por exemplo, os Polihidroxialcanoatos (PHA);

c) polímeros quimicamente sintetizados utilizando monómeros obtidos a partir de produtos de agro-recursos (biotecnologia), por exemplo, o (poli) ácido láctico;

d) os polímeros cujos monómeros e os próprios polímeros são obtidos por síntese química a partir de recursos fósseis, por exemplo as poliesteraminas.

Das categorias apresentadas as categorias a) e c) são referentes a polímeros obtidos a partir de recursos renováveis (Bordes et al. 2009). A estes polímeros biodegradáveis damos a designação de biopolímeros, sendo de salientar que facilmente se pode considerar de forma errada que a designação de polímero biodegradável é equivalente à de biopolímero.

3.1.1 Biopolímeros

Os biopolímeros são polímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis as quais se caracterizam por um ciclo de vida mais curto comparado com fontes fósseis como o petróleo (Brito et al. 2011). Na globalidade dos polímeros biodegradáveis, são estes os que têm atraído mais atenção, uma vez que ao serem obtidos a partir de fontes renováveis, apresentam um menor impacto ambiental associado à sua origem, um balanço positivo de dióxido de carbono (CO_2) após compostagem e a possibilidade de formação de um ciclo de vida fechado, como ilustrado na Figura 13.

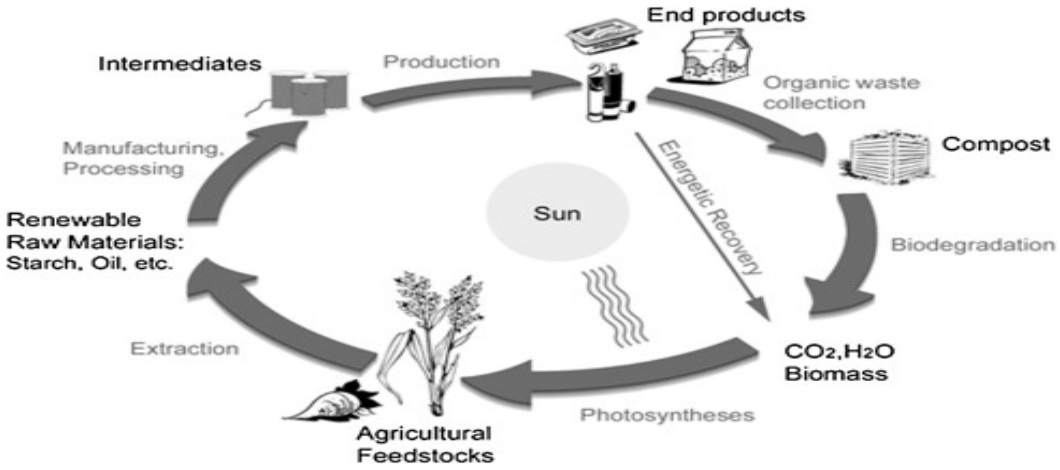


Figura 13 - Ciclo de vida de materiais biodegradáveis (Fonte: www.european-bioplastics.org).

Os biopolímeros são decompostos por ação predominantemente enzimática de microrganismos, em dióxido de carbono, metano, água, compostos inorgânicos, ou biomassa (Song et al. 2009). Estes podem ser podem ser distinguidos de acordo com a sua composição química em: ácidos nucleicos, poliamidas, polissacárideos, polióésteres, politioésters, polianidridos e polifenóis (Steinbüchel et al. 2003).

Apesar das vantagens associadas aos biopolímeros, estes possuem algumas limitações técnicas que tornam difícil o seu processamento e o seu uso como produto final. No sentido de colmatar as dificuldades associadas á sua manipulação, têm sido realizada investigação no intuito de melhorar algumas propriedades como; resistência térmica, propriedades mecânicas (entre outras), permeabilidade a gases e taxa de degradação (Brito et al. 2011).

Atualmente, existe uma enorme diversidade de biopolímeros que assim, são produzidos , pelo menos em parte, a partir de matérias primas renováveis e que são biodegradáveis, ou parcialmente biodegradáveis, em ambientes microbiologicamente ativos (Pradella, 2006). A Tabela 6 apresenta as principais famílias de bioplásticos atualmente produzidas:

Tabela 6 - Principais familias de biopolimeros com efectiva produção mundial. (Pradella, 2006)

BIOPOLIMERO	TIPO DE POLÍMERO	ESTRUTURA/MÉTODO DE PRODUÇÃO
Polímeros de amido	Polissacarídeo	Polímero natural modificado
Polilactatos (PLA)	Poliéster	Ácido láctico produzido por fermentação seguido de polimerização

Polihidroxialcanoatos (PHAs)	Poliéster	Produzido por fermentação direta de fonte de carbono por microrganismos ou em vegetais geneticamente modificados
Poliésteres Alifáticos – Aromáticos (PAA)	Poliéster	
Politrimetilenotereftalato (PTT)		1-3 propanodiol produzido por fermentação seguido de copolimerização com AT (ou DMT)
Polibutilenotereftalato (PBT)		1-4 butanodiol produzido por fermentação seguido de copolimerização com AT
Polibutilenosuccinato (PBS)		1-4 butanodiol copolimerizado com ácido succínico, ambos produzidos por fermentação
Poliuretanas (PURs)	Poliuretano	Polimerização de poliois obtidos por fermentação ou purificação química com isocianatos petroquímico
Nylon Nylon 6; Nylon 66; Nylon 69	Poliamida	Caprolactama produzida por fermentação Ácido adípico produzido por fermentação. Monômero obtido por transformação química do ácido oléico

Na globalidades dos biopolímeros, atribui-se comummente especial destaque aos PHA's. De igual modo, dada a contextualização da presente dissertação, é atribuído um maior enfoque na secção seguinte a este biopolímero em particular.

3.1.2 Polihidroxialcanoatos- PHAs

Dentro dos biopolímeros, os PHA's possuem entre outros, especial destaque devido á sua biodegrabilidade, biocompatibilidade e semelhança com alguns polímeros comerciais como o polietileno e polipropileno, em termos de propriedades (termoplásticas) e características (físicas em mecânicas) (Zheng et al. 2005; Brito et al. 2011, Bordes et al. 2009). No entanto, á semelhança de todos os outros biopolímeros, estes apresentam como grande entrave á sua efetiva aplicação industrial a sua relação custo/produção que não é vantajosa face á produção dos referidos polímeros sintéticos.

Os PHA's são poliésteres totalmente biodegradáveis em ambientes microbiologicamente ativos, biocompatíveis, podendo ser biossintetisados por bactérias a partir de diversas fontes de carbono renováveis ou não-renováveis (Brito et al. 2011). Estruturalmente são poliésteres

isotáticos (os ramos são ordenados regularmente do mesmo lado da cadeia) sendo que o mais comum dentre eles é o poli((R)-3-hidróxi-butirato ou mais abreviadamente P(3HB) (Figura 14).

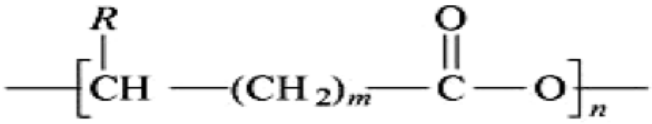


Figura 14 - Estrutura molecular geral dos polihidroxialcanoatos (PHAs), com m = 1, 2, 3 (m= 1 mais comum), com n a variar de 100 a milhares de unidades e R variável- (Fonte: Chen 2005).

A composição dos PHA's é dependente da especificidade do substrato de sintese, da fonte de carbono fornecida e da própria via metabólica envolvida, pelo que podem ser assim obtidos diferentes monómeros e consequentemente, diferentes polímeros e copolimeros (Brito et al. 2011). De acordo com Zheng et al. (2005) e Lee (1996) os PHA's podem ser classificadas em três subcategorais com base na composição dos seus monómeros: comprimento de cadeia curta (*Short-Chain-Lenght* PHA- C3 a C5), meio-comprimento de cadeia (*Médium-Chain-Lenght* PHA- C6 a C14) e comprimento longo de cadeia (*Long-Chain-Lenght* PHA- maior que C14).

As propriedades físicas e mecânicas associadas aos PHA's (e aos restantes biopolímeros), são dependentes da sua composição e do monómero que o constitui. São assim estas propriedades que se podem traduzir numa maior ou menor semelhança relativamente a vários termoplásticos e elastómeros convencionais e possibilitar uma possível substituição dos produtos químicos à base de petróleo utilizados na produção de plásticos.

Os PHAs são materiais lipídicos acumulados por uma grande variedade de microrganismos na presença abundante de uma fonte de carbono. Na sua produção os monómeros são sintetizados e polimerizados no interior das células dos microrganismos. As fontes de carbono assimiladas são bioquimicamente transformadas em unidades de hidroxialcanoatos, polimerizadas e armazenadas na forma de inclusões insolúveis em água, no citoplasma da célula (Brito et al. 2011). Neste processo de polimerização, o polímero é acumulado dentro das células bacterianas em forma de grânulos, atingindo até cerca de 90% de sua massa em base seca (Brito et al. 2011). O produto é um poliéster cristalino de elevada massa molar, que após isolamento, constitui um termoplástico cristalino com propriedades comparáveis as do polipropileno (Figura 15).

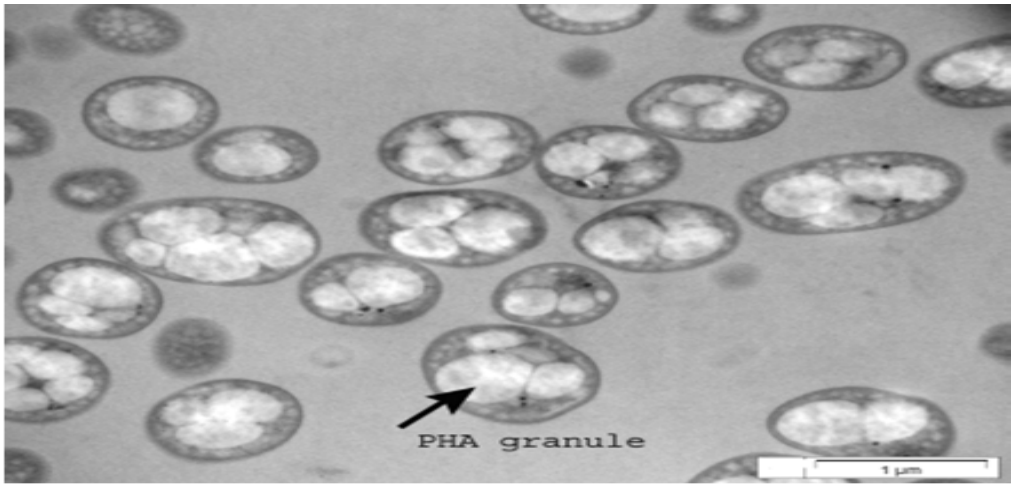


Figura 15– Micrografia de transmissão de elétrons das bactérias P. putida CA-3 onde as suas células contêm grânulos de PHA acumulados, A barra representa 1µm (Fonte: Ward et al 2005)

3.1.2.1 A acidogénese na produção de PHA's

Embora o metano seja geralmente considerado o produto final da degradação anaeróbia, existem alguns outros subprodutos valiosos que podem competir com o metano e tem um mercado para si, tais como ácidos gordos voláteis (AGV) que podem constituir uma fonte valiosa para a produção de polímero biodegradável (polihidroxialcanoatos - PHA) ou remoção biológica de nutrientes (Arroja et al,2012).

O interesse pelo estudo da acidogénese, como etapa fulcral na produção de PHAs surgiu a partir do momento que houve a percepção que os AOV's produzidos durante esta etapa, constituem os que se revelam como melhores substratos. Deste modo, a acidogénese anaeróbia tornou-se importante unitariamente, sendo os AOV's produzidos aquando a mesma, possíveis de ser utilizados e polimerizados em PHA's (Bengtsson et al., 2007).

A fermentação acidogénica está a ganhar interesse científico e comercial, uma vez que permite uma melhor tratamento de águas residuais, bem como de recuperação adicional de bioprodutos (Arroja et al., 2012).

A acidogénese possibilita a conversão de matéria orgânica a AOV's e posteriormente convertidos a monómeros de PHA. Assim, esta fase permite a conversão de um resíduo concentrado e organicamente assimilável por via microbiológica numa mistura de ácidos carboxílicos (AOVs), os quais são o substrato mais adequado para a bioacumulação de PHAs Estes, respectivamente derivam do tipo de AOV's consumidos para a sua produção (Bengtsson et al. 2007).

Acidogénese anaeróbia de lamas DAF na produção de biopolímeros

Tal como já anteriormente referido, uma vez que os monómeros se traduzem nas propriedades do biopolímero, este facto é fulcral na obtenção de um biopolímero com propriedades semelhantes ás dos plásticos convencionais. Albuquerque et al. (2007) encontrou uma correlação direta entre o perfil de ácidos gordos voláteis da alimentação e da composição monomérica final do polimero.

Exemplificando, os monómeros HB são formados sobretudo a partir de AOV's contendo um número par de átomos de carbono (ácido acético e ácido butírico), e os monómeros HV a partir de AOV's contendo um número ímpar de átomos de carbono (ácido propiónico e ácido valérico) (Bengtsson et al. 2007). Deste modo, se as variáveis de controlo aquando a acidogénese não forem controladas, vai ocorrer uma influencia na composição dos AOV's, que por sua vez irão influenciar a composição dos polímeros produzidos (Albuquerque et al., 2007).

O aumento de conversão de CQO a AOVs com número de carbonos ímpar conduz à produção de monómeros de hidroxivalerato (HV) (ácido propiónico e ácido valérico) (Bengtsson et al., 2007; Salmiati et al., 2007), os quais melhoram as propriedades térmicas e mecânicas do copolímero P(HB-HV).

Tem sido também demonstrado que a composição de AGV produzida sob a fermentação acidogénica pode ser afectada por condições ambientais tais como pH, tempo de retenção, e da temperatura (Arroja et al,2012).

Arroja et al (2012) estudaram a fermentação acidogénica de quatro resíduos orgânicos (melaço de cana de açúcar, águas residuais contendo borra de café usada, soro de queijo e lama DAF resultante do processamento de queijo), do ponto de vista do seu potencial de utilização como matéria-prima, na produção de AOV's, destacando o processo de acidificação como importante para o tratamento de fluxos de resíduos orgânicos e de gestão. Nos seus estudos, concluíram que os produtos de elevada resistência derivados das indústrias de alimentares considerados, podem simultaneamente ser convertidos em AOV's no reactor anaeróbio acidogénico com um grau considerável de acidificação (30-65%), dependendo do tipo de resíduos, e alcançando reduções de CQO de 40-60%. Neste estudo concluiu-se também que as condições ótimas de funcionamento são dependentes do tipo de resíduo, constatando-se que a carga orgânica e o pH são os dois parâmetros que mais afetam o grau de acidificação. De acordo com os resíduos utilizados, a carga orgânica deve ser 2,5-20 gCQO L-1d-1 em relação aos resíduos lentamente biodegradáveis (borra de café utilizada e lamas DAF) e 30-50 gCQOL-1d-1 em relação aos resíduos de alta resistência, tais como melaço e soro de queijo. Constatou-se também que a temperatura mesofílica o ácido acético foi sempre predominante em todas as experiências e o ácido propiónico o segundo mais presente. A temperaturas termofílicas foi o ácido butírico.

A produção de AOV'S tem vindo a ser estudado e aplicado a uma grande diversidade de efluentes, como se pode observar na Tabela 7:

Tabela 7 - Estudos referentes á produção de AOV's

Substrato	***Produto***	***Máx % conversão***	***Observações***	***Referência Bibliográfica***
Águas residuais de uma industria de papel	***AOV's***	***66%***	*Reatores Batch e CSTR a temperatura 37ºC*	(Bengtsson et al. 2008)
Soro de queijo		***67%***		
Efluentes industria laticinios	***AOV's***	***57,1%***	*Reatores Batch a temperatura 37ºC*	(Yu e Fang 2001)
Melaço da cana-de-açúcar	***AOV's***	***34%***	*Reatores MBBR a temperatura (37ºC)*	(Arroja et al. 2012)
águas residuais contendo borra de café usada	***AOV's***	***44,5%***	*Reatores MBBR a duas temperaturas (37 e 55ºC)*	
		40%		
soro de queijo	***AOV's***	***65,6%***	*Reator Batch a temperatura mesofílica (37ºC)*	
Lamas DAF	***AOV's***	***27%***	*Reatores Batch a duas temperaturas (37 e 55ºC)*	
		15%		

Verifica-se assim na atualidade uma grande pesquisa no sentido de desenvolver polímeros biodegradáveis com propriedades idênticas às dos plásticos convencionais, de modo a poderem substituir estes últimos em aplicações semelhantes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LAMAS DAF – ARMAZENAMENTO E MANIPULAÇÃO

O substrato utilizado neste trabalho foram lamas DAF provenientes da Estação de Tratamento de Águas Residuais Industriais- ETARI de lacticínios, Fromageries Bel Portugal, S.A. sita em Vale de Cambra, no distrito de Aveiro. A ETARI da referida instalação industrial labora desde 1991, possuindo tratamento preliminar para a remoção de sólidos em suspensão e gorduras, o denominado sistema DAF, de onde advém como já referido, a denominação atribuída ao tipo de lamas produzidas.

As lamas DAF, pelas suas características, tanto físicas como químicas, requerem procedimentos que devem ser realizados antes da sua manipulação. Ao nível da sua constituição física, as lamas DAF caracterizam-se tal como já referido, por uma elevada heterogeneidade. Assim, de modo a realizar a sua caracterização inicial aquando o inicio dos ensaios realizados, procedeu-se á sua homogeneização através da utilização de um utensílio elétrico para triturar (Figura 16).

Figura 16 - Homogeneização das lamas DAF

Inicialmente, de modo a preservar a amostra analisada, esta foi armazenada na câmara de refrigeração a cerca de 4ºC. Este procedimento revelou-se como não sendo o mais adequado, uma vez que, aquando o processo de descongelação (a temperatura ambiente), verificou-se que existia uma grande diminuição dos valores de CQO face aos determinados antes do processo de congelação.

A armazenagem das amostras de lamas DAF (já triturada), passou assim a ser realizada a temperatura ambiente. Contudo, constatou-se que ocorria também uma diminuição dos valores de CQO ao longo do tempo, embora a diferença entre os valores determinados aquando a sua armazenagem face aos obtidos no próprio dia de utilização, não fosse muito acentuada. Deste modo o tempo requerido para a homogeneização, caracterização e efetiva utilização das lamas foi menor.

4.2 LAMAS BIOLÓGICAS- PREPARAÇÃO E ARMAZENAMENTO

As lamas biológicas utilizadas como inóculo nos ensaios apresentados, eram provenientes do digestor anaeróbio integrado nas instalações do Sistema Multimunicipal de Saneamento da Ria de Aveiro – SIMRIA, sendo esta a instituição responsável pela recolha, tratamento e rejeição dos efluentes domésticos e industriais dos municípios aderentes ao sistema.

Inicialmente, as lamas biológicas cedidas pela SIMRIA, foram sujeitas a um processo de lavagem com recurso a água da rede. Após sedimentação das mesmas por ação da gravidade, a porção de clarificado retida na superfície era então retirada por escoamento e finalizando, todas as lamas biológicas lavadas eram armazenadas em um recipiente comum.

Aquando do inicio da caracterização da biomassa, realizou-se um pré-tratamento térmico das mesmas de modo a inibir a atividade metanogénica. Este procedimento consistia em submeter as lamas biológicas em uma estufa a 90ºC por um período de 30 minutos Este procedimento não se verificou como pertinente, uma vez que através de avaliações microscópicas, se verificou que a atividade microbiológica era extinta. Assim, este procedimento foi excluído sendo admitidas novas lamas para utilização que foram novamente sujeitas ao referido processo de lavagem.

A armazenagem das lamas biológicas, já após a sua decantação, era realizada em recipientes de cerca de 30L a temperatura ambiente, sendo que, antecedendo cada ensaio, era realizada a sua caracterização. De salientar que não foram utilizadas as mesmas lamas biológicas para todos os ensaios.

4.3 ENSAIOS DE ACIDIFICAÇÃO

4.3.1 Planeamento dos ensaios experimentais

Um dos principais factores que determinou o modo de execução da instalação experimental para a operação a seguir nos ensaios foi a temperatura. Uma vez que se pretende que os ensaios decorram a uma temperatura mesofílica, o volume do recipiente que vai conter o banho térmico e a própria dimensão das bombas termostáticas utilizadas, determinam o número de unidades operacionais (reatores) possíveis de ser monitorizados a cada ensaio. Assim, dada a disponibilidade de material e das dimensões dos reatores, adoptam-se para cada ensaio 3 unidades.

Uma vez que o processo biológico é anaeróbio, torna-se fulcral que toda a instalação experimental se encontrasse bem isolada, facto confirmado pela realização de um teste de estanquicidade. Dado que durante a digestão anaeróbia ocorre a formação de biogás, foi necessário adoptar a instalação de condutas que tornassem possível a sua saída do sistema, sem a perda de anaerobiose, e possibilitando a sua medição volumétrica e caracterização.

Para as amostragens, uma vez que todo o sistema se encontrava em anaerobiose, foi necessário adotar um método que possibilitasse a recolha de amostras a todo o conteúdo do reator sem interferir com as condições presentes.

4.3.2 Instalação experimental

As unidades operacionais fundamentais da instalação constituíam os reatores, no total de 3 unidades para cada ensaio. Cada reator compreendeu um recipiente de vidro de 5 litros de volume útil ao qual se encontrava acoplado um sistema de tubagens em Teflon. Estas permitiam que fosse possível extrair amostras do conteúdo do reator e encaminhar o biogás até um borbulhador, onde após a passagem por este, era direcionado para o topo de uma ampola que continha água no seu interior. A deslocação induzida pela entrada do biogás na ampola, levava a que ocorresse uma deslocação do nível de água e assim, este volume era contabilizado.

Uma vez que foi necessária a análise do biogás produzido durante os ensaios, na tubagem de passagem de biogás existia, para cada reator, um septo de borracha que permite que seja realizada a sua recolha com recurso a uma seringa. Dado que os ensaios a realizar eram relativos a uma temperatura mesofílica, o conjunto dos 3 reatores encontrava-se imerso num banho de água a 37ºC . Para tal recorreu-se ao uso de uma bomba termostática e de um termómetro para o controlo da temperatura. Na superfície da água foram colocados pequenos fragmentos de esferovite de modo a atuar como isolante e assim diminuir as perdas de calor entre a superfície de contacto água/ar.

A referida instalação experimental encontra-se apresentada de forma esquemática, na figura seguinte (Figura 17), onde os diferentes componentes mencionados se encontram identificados e legendados.

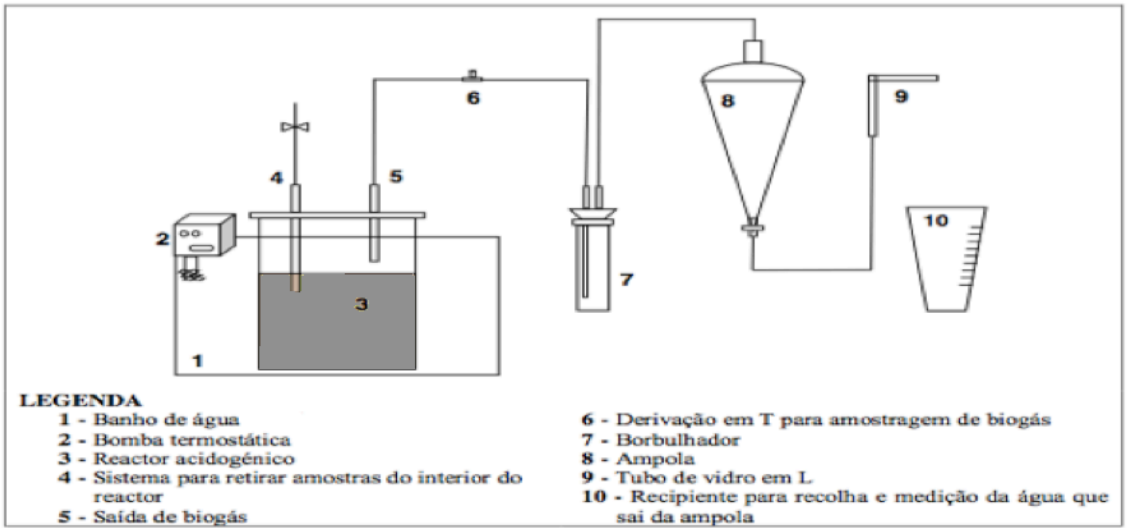


Figura 17 - Esquema da instalação laboratorial utilizada (Editado de: Isidoro C.(2009) Fermentação acidogénica para produção de substratos de biopolímeros)

4.3.3 Condições operatórias

Os ensaios de acidificação realizados são alusivos á monitorização de três reatores descontínuos mesofílicos (37ºC), sujeitos a um mesmo valor de F/M e diferentes valores de alcalinidade entre si. A sua execução seguiu uma matriz experimental dinâmica, uma vez que os ensaios subsequentes são adoptados com base nos resultados anteriores. A cada reator associou-se a identificação Ra. Alkb. em que "a" corresponde ao número de reator e "b" ao valor de alcalinidade (em g $CaCO_3$/L) utilizada (Tabela 8).

Tabela 8 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para os ensaios.

		Alcalinidade ($gCaCO_3$/L)		
		0	2	4
F/M	8	R1. Alk 0	R2. Alk 2	R3. Alk 4
	20	R1. Alk 0	R2. Alk 2	R3. Alk 4
	14	R1. Alk 0	R2. Alk 2	R3. Alk 4

A anaerobiose no interior do reator foi induzida pela introdução de azoto gasoso antes da selagem dos mesmos. Este procedimento era realizado pelo borbulhamento do conteúdo dos reatores por um período de cerca de dois minutos, eliminando assim o O2 e o CO2.

4.3.4 Plano de Monitorização – amostragem

De forma sucinta, adoptaram-se como períodos de amostragem os mencionados na tabela seguinte (Tabela 9):

Tabela 9– Parâmetros, periocidade e ponto de amostragem.

Parâmetros	Periocidade da amostragem	Ponto de amostragem
CQOt (g/L)	Inicio e fim	Interior reator
CQOs (g/L)	Inicio, diariamente e fim	Interior reator
SST (g SST/ L)	Inicio e fim	Interior reator
SSV (g SSV/L)	Inicio e fim	Interior reator
pH (-)	Inicio, diariamente e fim	Interior reator
Alk (gHCO3/L)	Inicio e fim	Interior reator
Biogás (CH4)	(inicio 2h, 4h, 6h, durante 1x/dia)	Linha de biogás
AOV's	1 x /dia	Interior reator

4.3.5 Preservação de amostras

No decorrer dos ensaios, por razões temporais ou de pela indisponibilidade de equipamentos para as análises, recorreu-se á preservação de algumas amostras. No caso da amostra referente ao conteúdo do reator, esta era acidificada e refrigerada, possibilitando a análise em termos de teor em sólidos. No entanto, as leituras de pH, alcalinidade e CQO total e solúvel, por não poderem ser realizadas com a amostra acidificada, foi necessário sempre a sua pontual quantificação. Também devido aos inúmeros períodos em que o cromatografo gás – liquido esteve indisponível por sucessivas avarias, a preservação das amostras de AOV's foi necessária. Na descrição mais detalhada destes parâmetros, nomeadamente na metodologia analítica que se apresenta em seguida, o procedimento seguido e materiais utilizados são referidos.

4.4 METODOLOGIA ANALITICA

Os parâmetros químicos são alusivos à constituição orgânica e inorgânica do efluente. É segundo esta constituição que cada técnica é elegida, de forma a permitir quantificar as amostras a analisar.

4.4.1 pH

A monitorização do pH foi realizada por potenciometria utilizando um aparelho Consort C-535 agregado a um eléctrodo de pH de xerolite. A calibração do mesmo era efetuada utilizando soluções tampão comerciais (Panreac) de pH conhecido (pH 4 e 7). conforme indicado por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005).

Após cada amostragem era imediatamente efectuada a determinação do pH de modo a evitar variações decorrentes da permuta de gases com a atmosfera. As amostras compreendiam um volume de cerca de 10 ml, no qual, a temperatura ambiente era mergulhado diretamente o electrodo de pH.

Este procedimento segue a metodologia do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005), a qual descreve a determinação do pH de uma amostra pode ser realizada com esta a temperatura ambiente e com a inserção direta de um electrodo calibrado.

4.4.2 Alcalinidade

A determinação da alcalinidade seguiu– Método 2320 B, (APHA, 2005) em que não se procedia a nenhuma separação dos sólidos em suspensão, realizando-se uma titulação da amostra com uma solução aquosa de ácido clorídrico (HCL) 0,5M até pH 4,5. Para o cálculo do valor de alcalinidade em mg $CaCO_3$/L recorre-se ao cálculo apresentado na equação seguinte (11):

$$Alcalinidade(mgCaCO_3.L^{-1}) = \frac{V_{HCl}(ml) \times C_{HCl}(mol.L^{-1}) \times M_{CaCO_3}(g.mol^{-1})}{V_{amostra}(ml) \times 10^{-3}} \quad (11)$$

4.4.3 Carência química de oxigénio (CQO)

A Carência Química de Oxigénio (CQO) permite quantificar a quantidade de oxidante químico necessário para reagir, em condições controladas, com a fracção orgânica e inorgânica da amostra, passível de ser oxidada por via química. Trata-se assim de uma forma de indiretamente determinar a concentração de matéria orgânica, ou seja, a quantidade de oxigénio necessária para a oxidação completa da matéria oxidável, orgânica e inorgânica presente no efluente (Baumgarten; Pozza, 2001).

Nos ensaios decorrentes do estudo apresentado, a análise de CQO foi utilizada para quantificar a matéria orgânica na fracção solúvel (CQOs) e total (CQOt) das amostras, compreendendo respectivamente a fracção liquida e sólida. Para a determinação do CQO correspondente á fracção filtrada da amostra – CQOs, realizou-se uma filtração da mesma recorrendo ao uso de papel de filtro da marca Reeve Angel® (grade 403 poro Ø = 0,45 µm).

As análises realizadas para a determinação deste parâmetro seguiram o método habitualmente designado por Método Colorimétrico ou Método de Refluxo Fechado com determinação espectrofotométrica, descrito em APHA, (2005) - como método 5220 D. O referido método baseia-se na determinação da quantidade de oxigênio necessária para a completa oxidação da matéria orgânica usando um agente oxidante forte em meio ácido, a altas temperaturas. Como oxidante, foi utilizado o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) em excesso. A solução de digestão utilizada continha ácido sulfúrico(H_2SO_4), de forma a proporcionar as condições ácidas, sulfato de prata (Ag_2SO4) para promover a oxidação de álcoois e ácidos de cadeia longa e sulfato de mercúrio (HgSO4) para eliminar a interferência dos cloretos. Na digestão a cada 2,5 ml de amostra era então adicionado 3,5 mL de solução de digestão e 1,5 mL de dicromato de potássio. Esta decorria durante um período de 2 horas a 150ºC.

Findo o processo de digestão das amostras e arrefecimento das mesmas a temperatura ambiente, procedia-se á medição da absorvância das amostras, em que por via espectrofotométrica, se determina assim, o excesso de dicromato de potássio que não reagiu. Para tal, foi utilizado um espectrofotómetro (marca Aqualytic, modelo PC023212), que através da recta de calibração interna do próprio aparelho, permite converter os valores de absorvância diretamente em termos de massa de oxigénio consumido por volume de amostra , ou seja, a quantidade de oxidante gasto durante a reação de oxidação - mg O2/L.

Uma vez que este método analítico apresenta uma gama de medição até 900 mg O2/L, sempre que necessário, para valores de CQO elevados, foi necessário recorrer a diluições antes da sua análise. De salientar que todas as amostras foram realizadas em triplicado e em cada leitura de absorvância eram registados três valores que resultavam de diferentes medições devido á mudança de posição (rotação) do recipiente de vidro que continha a amostra digerida, no recetáculo do espectrofotómetro.

4.4.4 Sólidos (SST e SSV)

As análises das amostras relativamente á quantificação do teor em sólidos, SST e SSV foram realizadas segundo a metodologia apresentada no Standard Methods (APHA, 2005), que enuncia o método clássico para determinação de sólidos - método gravimétrico, no qual a concentração de sólidos é quantificada através de seu peso seco (APHA, 2005), respectivamente os Métodos 2540 D e 2540 E.

Na quantificação do teor de SST, realizou-se a filtração de um volume conhecido de amostra, recorrendo ao uso de filtros (Reeve Angel®, grade 403 poro Ø = 0,45 µm)) com a posterior secagem em estufa (Shimadan) durante 24horas a 105ºC. O valor de SST em mg/L final é determinado pelo peso final após a estufa excluindo o peso do filtro e do cadinho utilizando a Equação 12:

$$SST\,(mg.L^{-1}) = \frac{m_{cadinho+\,filtro+amostra\ seca}(mg) - m_{cadinho+\,filtro}(mg)}{V_{amostra}(L)} \quad (12)$$

Para a determinação da fracção volátil do teor dos SST, ou seja, os SSV, recorreu-se ao uso de uma mufla (Termolab SR- 24) para a calcinação da amostra seca durante 2horas a 550ºC. Assim a variação em massa do valor após a calcinação representa o valor de SSV em mg/L (13):

$$SSV\,(mg.L^{-1}) = \frac{m_{cadinho+filtro+amostra\ calcinada}(mg) - m_{cadinho+filtro+amostra\ seca}(mg)}{V_{amostra}(L)} \quad (13)$$

As pesagens inerentes aos procedimentos de determinação de SST e SSV foram realizadas com recurso a uma balança marca Precisa XB 120A (máx. 120g; min. 0,01g, desvio padrão=0,0001g; erro padrão=0,001g).

As análises de teor de sólidos foram realizadas em triplicado e deste todos os valores apresentados são valores médios.

4.4.5 Biogás

O biogás proveniente da degradação de compostos orgânicos por uma grande diversidade de grupos de microrganismos é constituído basicamente de metano (CH4), compostos inorgânicos como dióxido de carbono (CO_2), N_2, NH_3, H_2S e traços de outros gases e ácidos orgânicos de baixo peso molecular (Leite et al. 2009).

No caso do presente estudo apenas foi analisada a composição de biogás produzido em

termos de CH_4 e CO_2. Através de cromatografia gasosa, utilizando para o efeito um cromatógrafo gasoso (marca SRI, modelo 8610C), foi possível obter os valores em termos percentuais (v/v) de CH_4 , CO_2 e outros componentes gasosos (N_2, H_2, H_2S, etc.) de forma não diferenciada. Os resultados traduziam-se em cromatogramas que fornecem as áreas dos picos correspondentes aos componentes gasosos referidos. Através de uma curva de calibração, o próprio aparelho converte os valores das áreas em volume (ml). Assim, uma vez que o volume de biogás injetado correspondia a cerca de 1 ml, através da relação destes dois valores volumétricos obtem-se o percentual (volumétrico) de cada tipo de gás da amostra.

A amostragem de biogás era realizada com recurso a uma seringa de volume útil de 5 mL. A colheita do volume de 1 mL necessária para a amostragem, realizava-se através da perfuração no septo existente na tubagem em cada um dos reatores (Figura 16). A cada colheita a seringa era lavada com o próprio biogás de modo a evitar possíveis interferências de amostras de biogás residual proveniente de amostragens anteriores.

Tabela 10 - Condições de operação do cromatógrafo gasoso

Características	Condições
Tipo gás	Hélio (gás de arraste)
Caudal	10 mL/min
Coluna (características)	Stainless Steel Packed Column, Haysep Q, 2,5mx2,1mm ID
Temperatura de corrida	61ºC
Tempo de corrida	10 min
Software de integração	Peak Simple (2004), versão 3.29
Volume de amostra	1 mL

A cada análise de biogás, através do referido software de integração, era obtido um cromatograma no qual se evidenciam três picos (Figura 18) relativos respectivamente á presença de: componentes gasosos como N_2, H_2, H_2S, etc na sua totalidade, CH_4 e por fim CO_2.

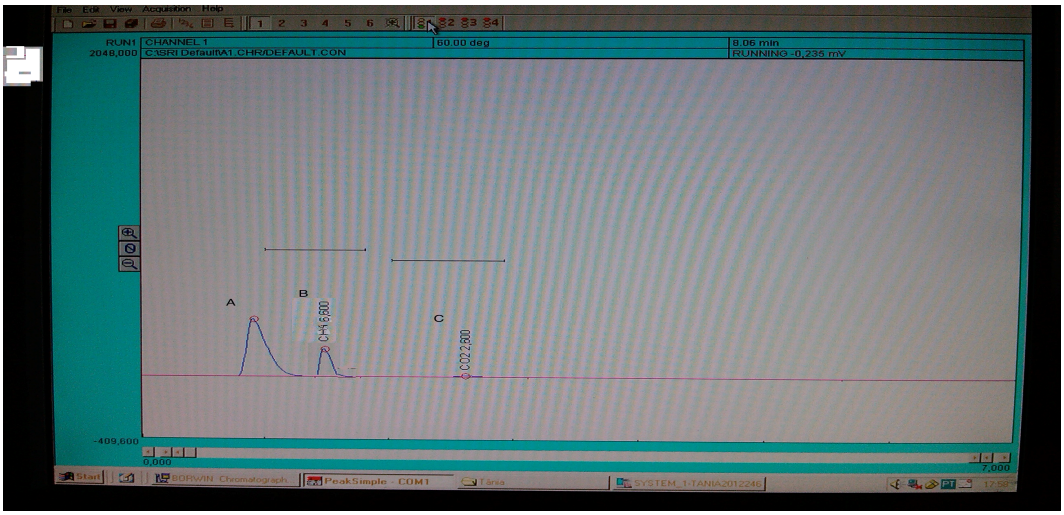


Figura 18 – Exemplo de cromatograma obtido pelo programa Peak Simple v.3.29 onde se apresenta a análise em termos de : A) presença de: componentes gasosos como N_2, H_2, H_2S, etc, B) CH_4 e C) CO_2

A presença dos compostos no biogás referidos para A na anterior figura, foram estimados de acordo com a expressão (14):

$$\%Outros\ compostos\ gasosos = 100\% - \%CH_4 - \%CO_2 \quad (14)$$

Assim, para uma posterior análise, a área de cada pico do cromatograma (Figura 14) é convertida em % de composição de composição de gás.

4.4.6 Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's)

Na análise e determinação de AOV's do presente estudo, foi realizada por cromatografia gás- líquido, utilizando para o efeito, um cromatógrafo com detector de ionização de chama (FID), marca Chrompack, modelo CP9001, com as características apresentadas na tabela seguinte (Tabela 11):

Tabela 11 - Condições de operação do cromatógrafo gás-líquido para determinação de AOVs

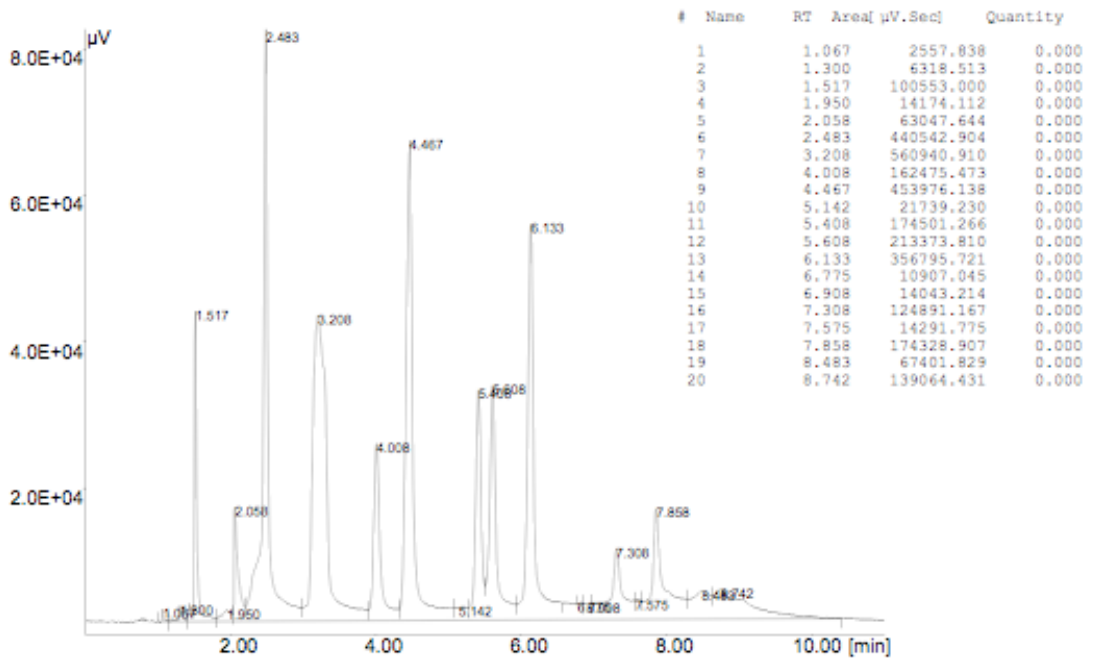
Tipo e caudal de gases	Hélio (gás de arraste); Q=8 mL min-1 Azoto (gás de make-up); Q=30mL min-1 Hidrogénio (gás para chama); Q=30 mL min-1 Ar (gás para chama); Q=300 mL min-1
Características da coluna	Coluna Chrompack CO-sil5 CB (25m x0,53 mm x 5 µm)
Temperatura	Detector: 300ºC; Injector: 270ºC; Coluna: 290ºC; Forno:70ºC.
Volume de amostra	0,5 µL
Software de integração	Jasco-Borwin (1998), versão 1.50

A determinação da composição e concentração dos AOV's compreendeu a análise do Ácido Acético, Ácido Propiónico, Ácido I-butírico, Ácido N-butírico, Ácido I-valérico, ácido N-valérico e o Ácido N-capróico, perfazendo na totalidade sete AOV's analisados.

As amostras antes de qualquer análise foram sujeitas a um processo de centrifugação. No entanto este procedimento não foi suficiente para que as amostras apresentassem a pureza/transparência necessária para serem utilizadas no cromatógrafo. Assim, procedeu-se á filtração das mesmas utilizando filtros Reeve Angel®, grade 403. Para a sua preservação e armazenamento, as amostras foram acidificadas com ácido fórmico, na proporção de 1:10 (v/v) e refrigeradas a 4ºC em frascos de polietileno, até á sua análise.

A calibração do aparelho foi realizada com recurso a padrões mistos de concentração conhecida, sendo estabelecida uma relação entre a área de cada pico do cromatograma e a concentração de AOV's correspondente, possibilitando desta forma a identificação e quantificação de cada AOV nas amostras analisadas.

Assim, com recurso aos cromatogramas obtidos, pelo software de interação utilizado, (exemplo na Figura 19), é possível quantificar cada um dos ácidos já referidos.



#	Name	RT	Area[μV.Sec]	Quantity
1		1.067	2557.838	0.000
2		1.300	6318.513	0.000
3		1.517	100553.000	0.000
4		1.950	14174.112	0.000
5		2.058	63047.644	0.000
6		2.483	440542.904	0.000
7		3.208	560940.910	0.000
8		4.008	162475.473	0.000
9		4.467	453976.138	0.000
10		5.142	21739.230	0.000
11		5.408	174501.266	0.000
12		5.608	213373.810	0.000
13		6.133	356795.721	0.000
14		6.775	10907.045	0.000
15		6.908	14043.214	0.000
16		7.308	124891.167	0.000
17		7.575	14291.775	0.000
18		7.858	174328.907	0.000
19		8.483	67401.829	0.000
20		8.742	139064.431	0.000

Figura 19 - Exemplo de um cromatograma resultante de uma análise a uma amostra de AOV's

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ENSAIOS LABORATORIAIS

Os ensaios de acidificação realizados compreenderam a avaliação da influência das variáveis alcalinidade e a razão F/M a uma temperatura mesofílica (37ºC).

Mediante a adopção de uma matriz experimental que relacionava estes dois parâmetros, obtiveram-se os resultados relativos a 3 ensaios que serão avaliados segundo a sua evolução temporal.

Para uma melhor exposição de resultados, a cada reator associou-se a identificação Ra. Alkb. em que "a" corresponde ao número de reator e "b" ao valor de alcalinidade (em g $CaCO_3$/L) utilizada. Na tabela seguinte (Tabela 12) são apresentados os ensaios realizados e principais parâmetros de caracterização:

Tabela 12– Ensaios realizados e principais parâmetros de caracterização.

Ensaios	Reator	Tempo operação (dias)	Lamas biológicas (gSSV/L)	Lamas DAF (gCQOt/L)	F/M	Alcalinidade (g $CaCO_3$/L)
1	**R1.Alk 0**	21	**2**	**16**	**8** [1]	**0**
	R2. Alk2					**2**
	R3.Alk4					**4**
2	**R1. Alk 0**	31	**2**	**40**	**20**	**0**
	R2. Alk 2					**2**
	R3. Alk 4					**4**
3	**R1. Alk 0**	18	**2**	**28**	**14**	**0**
	R2. Alk 2					**2**
	R3. Alk 4					**4**

[1] Inicialmente projetado para F/M=20

Cada ensaio inclui os resultados relativos á monitirização de três reatores sujeitos a um mesmo valor de F/M e diferentes valores de alcalinidade entre si.

Os resultados estão apresentados pela sua ordem de realização, sendo que a conclusão do ensaio era determinada pela análise de AOV's.

Segundo Arroja et al. (2012) nos ensaios de acidificação de lamas DAF realizados para a sua valorização em termos de produção de AOV's á temperatura mesofílica sem controle de pH, os picos máximos de AOV's eram atingidos entre 8 e 15 dias. Considera-se assim este intervalo temporal a par dos critério enunciado anteriormente, como base para a conclusão dos ensaios experimentais.

5.2 ENSAIO 1

Os resultados apresentados para este ensaio incluem os parâmetros e variáveis de interesse para a avaliação da acidificação do conjunto lamas DAF/biomassa referindo-se a um processo de monitorização de 21 dias. Tratando-se do primeiro ensaio realizado, para a sua interpretação e análise foi realizado um maior numero de ensaios decorrentes da dificuldade associada á caracterização e manipulação do substrato.

No referido ensaio foi adoptado um F/M de 20 tendo a alcalinidade valores de 0, 2 e 4 $gNaHCO_3$ para os três reatores utilizados, seguindo a matriz experimental da Tabela 13. A cada reator associou-se a identificação Ra. Alkb. em que "a" corresponde ao número de reator e "b" ao valor de alcalinidade (em g $CaCO_3$/L) utilizada.

Tabela 13 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para o Ensaio 1

		Alcalinidade ($gCaCO_3$/L)		
		0	2	4
F/M	20	R1. Alk 0	R2. Alk 2	R3. Alk 4

5.2.1 Caracterização do substrato e lamas biológicas utilizadas - parâmetros operacionais

Para a execução do ensaio foi realizada uma caracterização das lamas DAF e da biomassa utilizadas, sendo os principais resultados obtidos apresentados na tabela – tabela 14. Dada a forte heterogeneidade das lamas DAF, foram realizadas para a determinação em termos de CQOs e CQOt dez réplicas.

Tabela 14– Caracterização inicial das lamas DAF e biomassa utilizada no ensaio 1

	Lamas DAF			**Lamas biológicas**	
	CODt (g COD/L)	**CODs** (gCOD/L)	**pH**	**SST (g/L)**	**SSV (g/L)**
Ensaio **1**	195,81	22,40	5,67	16.6	12

Para o arranque do ensaio nas condições anteriormente estabelecidas (Tabela 12), a cada reator foram adicionadas quantidades previamente determinadas -Tabela 15:

Tabela 15–Conteudo inicial dos reatores utilizados no ensaio 1

	F/M	**Lamas DAF**	**Lamas biológicas**	**Solução de alcalinidade**	**nutrientes**		**H_2O**
					I	**II**	
	-	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)		(mL)
R1.Alk0	**8** [1]	850	1041,80	0	5,1	10,2	3192,90
R2.Alk2	**8** [1]	850	1041,80	171,36	5,1	10,2	3021,54
R3.Alk4	**8** [1]	850	1041,80	1275,00	5,1	10,2	1917,90

[1] Inicialmente projetado para F/M=20

Os valores apresentados são relativos a cálculos para um volume total de 5,1 L, uma vez que se considerou que ao invés do volume útil de 5 L do reator, também os 100 mL que iriam ser

retirados imediatamente antes da selagem do reator. Este procedimento será adoptado na realização de todos os ensaios.

O valor de H_2O adicionado referido na Tabela 14, corresponde á quantidade adicionada a cada reator necessário para perfazer o volume total de 5,1 L.

Antes da selagem de cada um dos reatores, estes eram borbulhados com azoto gasoso durante um período de aproximadamente 2 minutos para impor condições anaeróbias.

A cada reator foram adicionados micro e macronutrientes 1ml de solução I e 2 ml da solução II por cada L de volume reacional, em um total de 15,3 mL . As quantidades de cada um dos nutrientes encontram-se descritas na Tabela 16:

Tabela 16 - Constituição das soluções de micro e macronutrientes utilizadas (Adaptado de: Nadais, 2001).

Solução I – Micronutrientes	Concentração (mg/L)
$FeCl_3 . 6H_2O$	2454
$CoCl_2 . 6H_2O$	2000
$MnCl_2 . 4H_2O$	500
$CuCl_2 . 4H_2O$	30
$ZnCl_2$	50
H_3BO_3	50
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} . 4H_2O$	90
EDTA	1000
$NiCl_2 . 6H_2O$	50

Solução II – Macronutrientes	Concentração (mg(L)
NH_4Cl	170
KH_4PO_4	37
$CaCl_2 . 2H_2O$	8
$MgSO_4 . 4H_2O$	9

5.2.2 Confirmação do valor de F/M imposto ao ensaio

Uma vez que se recorreu ao processo de congelamento para armazenamento das lamas DAF, considerou-se relevante aquando o inicio do ensaio, após o descongelamento do substrato, confirmar o CQOt e assim assegurar o F/M adoptado para o ensaio - Tabela 17:

Tabela 17 - Resultados das análises ás lamas DAF para confirmação do F/M imposto ao ensaio.

Caracterização inicial		**Caracterização inicio ensaio**	
CODt (g COD/L)	195,81	**CODt** (g COD/L) 0h	78,33
CODs (gCOD/L)	22,40	**CODs** (gCOD/L) 0h	17,87

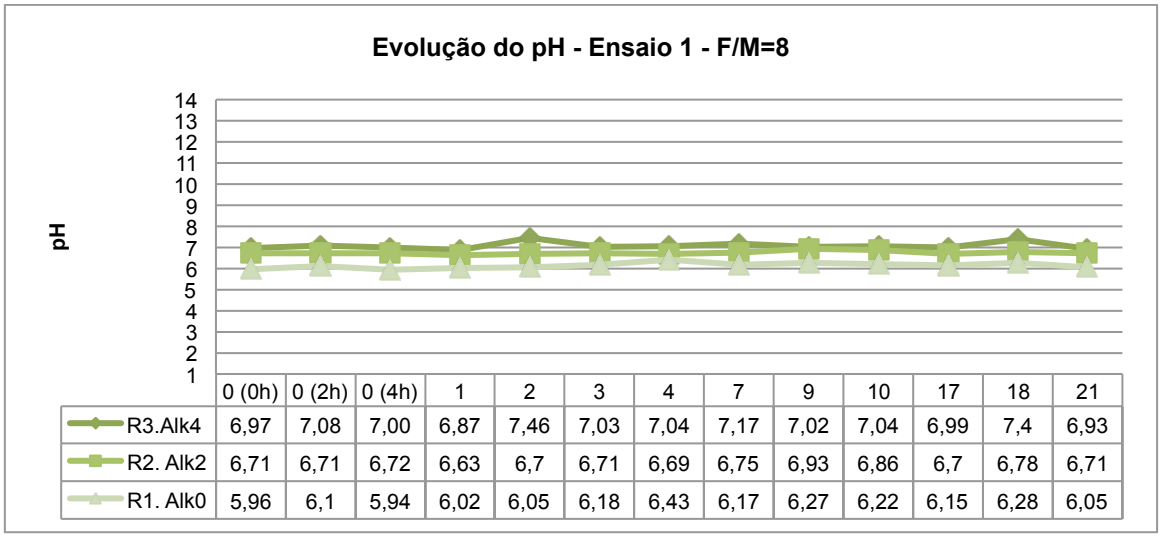
Pela análise efetuada constatou-se uma efetiva perda de CQOt devido ao processo de conservação da amostra. Desta forma, o presente ensaio realizou-se com um F/M real de 8 ao invés de 20. O armazenamento do substrato passou a ser realizado a temperatura ambiente e a determinação de CQOt realizada no dia que antecede o arranque do ensaio.

5.2.3 Perfis temporais das variáveis de monitorização do sistema

5.2.3.1 Evolução do pH

Em cada amostragem realizada, foi determinado o pH. Não foi realizada nenhuma correção do mesmo no decorrer da monitorização dos ensaios, no entanto uma vez que constitui um parâmetro importante na operação de reatores anaeróbios além da sua importância no sistema ácido/base de processos biológicos anaeróbios a sua determinação é realizada.

A sua evolução temporal ao longo do ensaio encontra-se apresentada no gráfico seguinte (Figura 20):



	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	9	10	17	18	21
R3.Alk4	6,97	7,08	7,00	6,87	7,46	7,03	7,04	7,17	7,02	7,04	6,99	7,4	6,93
R2. Alk2	6,71	6,71	6,72	6,63	6,7	6,71	6,69	6,75	6,93	6,86	6,7	6,78	6,71
R1. Alk0	5,96	6,1	5,94	6,02	6,05	6,18	6,43	6,17	6,27	6,22	6,15	6,28	6,05

Figura 20 - Evolução temporal do valor de pH para os reatores do Ensaio 1 (F/M=8).

Pela análise da Figura 20 verifica-se que a variação de pH relativa ao reatores R2.Alk 2 e R3.Alk 4 se encontra no intervalo referido por Foresti (1993), 6.8 - 7.5. No caso do reator com alcalinidade nula, R1.Alk 0 os valores de pH encontram-se baixos relativamente á faixa referida como ótima para a operação de sistemas anaeróbios.

Verifica-se que os valores de pH são mais elevados para o reator com maior alcalinidade, ou seja, com uma maior adição de $CaCO_3$/L.

Os valores de pH obtidos, para os três reatores, mantêm-se constantes de forma geral, com variações até um máximo de pH de 0,5. A alcalinidade tem um papel fundamental na manutenção do pH, restringindo eventuais variações bruscas deste parâmetro que possam ocorrer e afetar significativamente a atividade microbiana.

5.2.3.2 Alcalinidade

Para a análise deste parâmetro, torna-se essencial a sua associação á interpretação realizada relativamente ao pH, uma vez que estes dois parâmetros se encontram relacionados.

A determinação do valor de alcalinidade correspondente a cada reator foi realizada com base em titulações com uma solução de ácido clorídrico (0,5M HCl). Os valores correspondentes á sua determinação encontram-se na Tabela 18:

Tabela 18 - Valores de alcalinidade obtidos para os reatores referentes ao Ensaio 1.

	Alcalinidade (g $CaCO_3$ /L)		
	R**1.** Alk **0**	R**2.** Alk **2**	R**3**. Alk**4**
Objetivo	0	1,25	1,58
Inicio	2	2,14	2,65
Final	4	3,23	3,73

Pela análise dos valores da Tabela 18 , observa-se que o valor real de alcalinidade que é determinado no inicio do ensaio não é igual ao valor imposto para o ensaio. Não sendo a discrepância muito grande no reator R2. Alk2 e R3. Alk4, já para o R1. Alk0 em que se assume que a alcalinidade será nula, tal não se verifica. Tal facto deve-se á relação deste parâmetro com o pH, uma vez que as próprias características do substrato adicionado e da própria biomassa em termos de pH influenciam o valor final determinado.

Outro fator constante nos valores apresentados é a alcalinidade no fim de cada teste que apresenta sempre um incremento relativamente ao valor determinado inicialmente. Este comportamento é justificado pelas próprias características em termos de pH das lamas DAF e da biomassa utilizadas, que por si só incrementam o valor de deste parâmetro. Além disso, este aumento do valor de alcalinidade no final do ensaio é devido á acidez associada ás especificidades da microbiologia anaeróbia, como a própria acidogénese que pode levar à acumulação de grandes quantidades de ácidos orgânicos, resultando em pH ácido (Ostrem, 2004). A alcalinidade pode ser incrementada também devido á degradação de compostos de azoto, redução de sulfatos, libertação de ortofosfatos e aumento da concentração de ácidos orgânicos voláteis (Song et al, 2004).

5.2.3.3 CQO total

Na figura seguinte são apresentados os valores médios de CQO total dos três reatores para o ensaio 1:

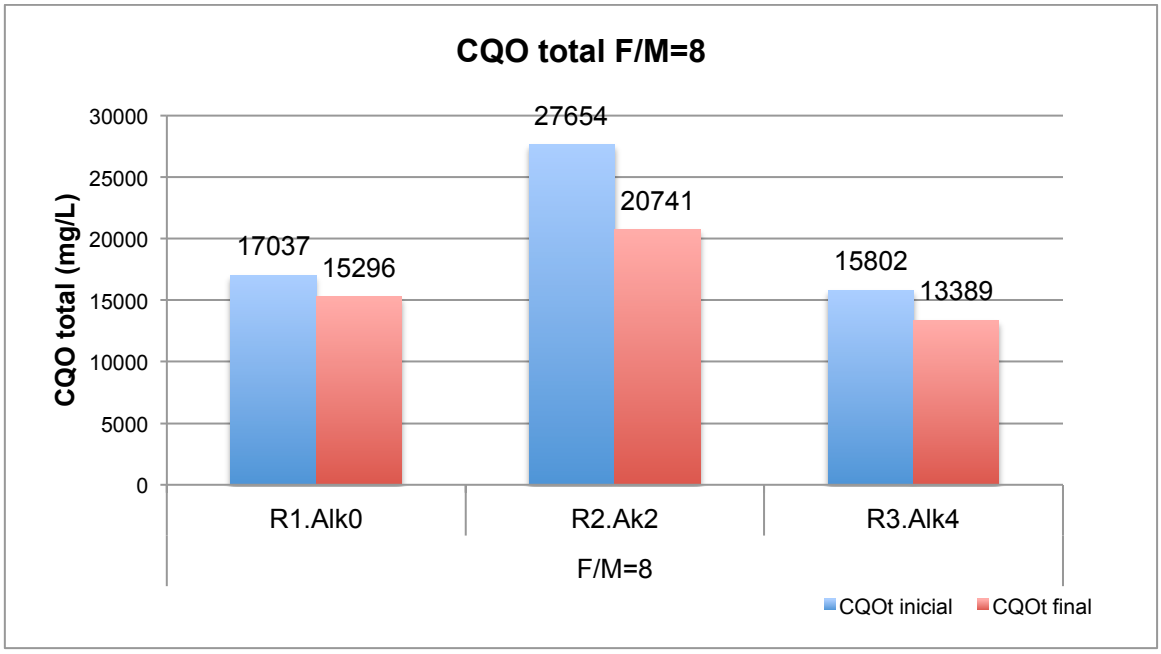


Figura 21- Valores de CQO total no inicio e no fim do ensaio 1.

Verifica-se pela análise da Figura 21 que o CQO total inicial dos reatores apresentava valores entre 15802 mg/L e 27654 mg/L e no final um CQO total mais baixo, sendo possível concluir que se verifica a biodegradabilidade do substrato. Esta biodegradabilidade verifica-se após 21 dias com valores de 10% para R1.Alk0, 25% para R2. Alk2 e 15% e R3.Alk4.

5.2.4 Produção e composição de biogás na digestão anaeróbia do ensaio 1

Os resultados relativos á produção de biogás estão sujeitos a duas grandes interferências que se verificaram ao longo da sua monitorização.

Durante o período de monitorização aquando a homogeneização manual dos reatores que exigia que estes fossem deslocados, verificou-se que este procedimento induzia na saída de um volume de água para a proveta de medição de volume. Isto ocorreu, pois tal como afirmado anteriormente, o sistema que media a produção de biogás tinha de verificar um nivelamento da saída do volume de água, (que corresponderá em termos de volume ao biogás produzido) com a superfície água/ar contida na ampola ligada ao reator. Este volume não é excluído pois representa biogás que se encontra retido no próprio sistema e que é assim libertado.

Também devido ás fortes temperatura que se verificaram aquando o ensaio, aliadas á grande exposição solar que o laboratório apresenta, ocorreu a evaporação da água contida nas provetas em que era feita a contabilização. Este facto foi constatado uma vez que inicialmente, cada medição de volume produzido era feita sem rejeitar o volume anterior já contabilizado.

A produção de biogás em termos percentuais em cada um dos três reatores (R1.Alk0, R2. Alk2 e R3.Alk4) está apresentada na Figura 22:

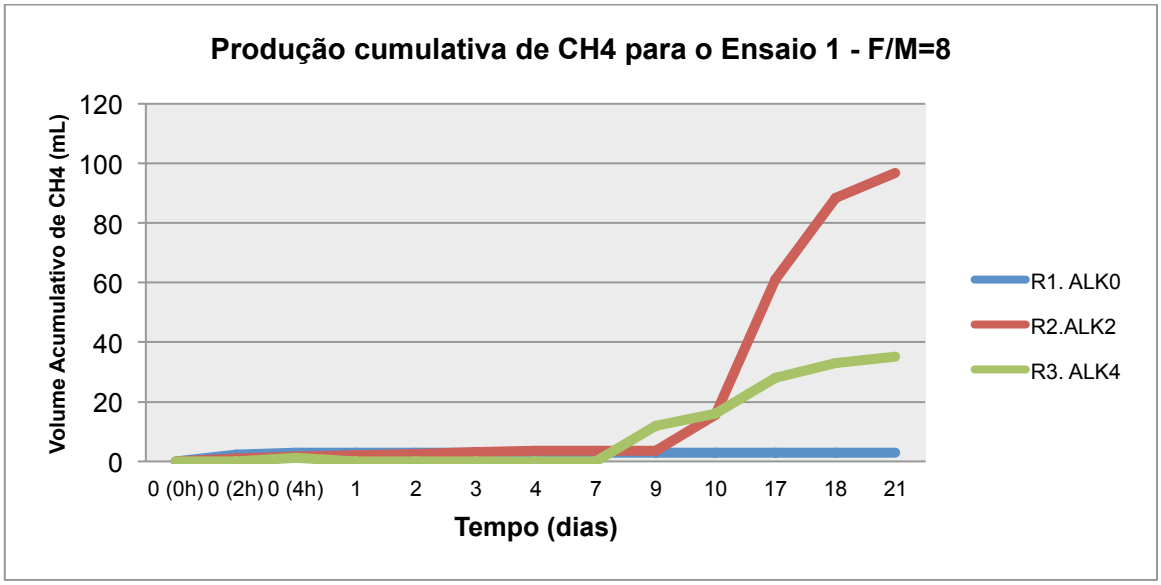


Figura 22 - Produção cumulativa de metano para os reatores R1 com alcalinidade nula, R2 com alcalinidade 2 e R3 com alcalinidade 4 (em g CaCO3/L) para uma razão de F/M=8 e T=37ºC.

Pela análise do gráficos apresentado, denota-se que a produção de metano no reator R1.Alk0 e R3. Alk4 foi muito mais reduzida que no reator R2.Alk2.

No reator de alcalinidade nula (R1) e no R2. Alk2 a presença de metano só se verifica a partir do 9ºdia, fase que se considera como adaptativa dos microrganismos ao substrato, ou seja, uma fase de adaptação metabólica. O mesmo acontece para o R3. Ak4 em que a produção de metano se verifica a partir do 7º dia.

A constância de produção de metano não foi preponderante para o fim do ensaio, uma vez que se pretende a acidificação do substrato com a inibição da metanogénese. Servem os resultados obtidos por Arroja et al (2012) que indicam que os tempos de operação necessários para atingir os picos de AOV's são de 8-15 dias a 37 º C sem controlo de pH.

5.2.5 Evolução Temporal dos Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's)

Apresenta-se para o Ensaio 1 a análise da concentração de AOV's em mg de ácido acético /L para os reatores em análise (R1. Alk0, R2. Alk2 e R3. Alk4) em função do período temporal em que foram operados (Figura 23,24 e 25):

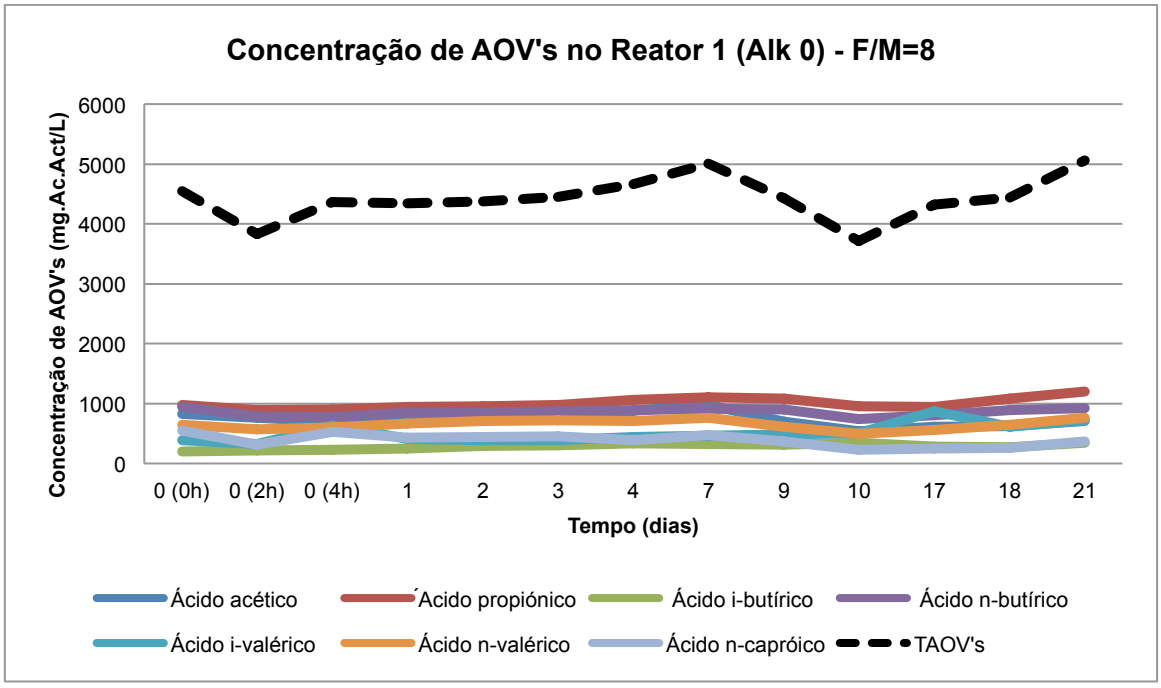


Figura 23– Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R1 para uma alcalinidade nula e F/M=8 a T=37ºC.

Pelo gráfico apresentado na Figura 23 verifica-se que no reator R1 com alcalinidade nula apresenta durante o tempo de monitorização do ensaio a presença dos sete AOV's de forma relativamente constante, sendo que o ácido propiónico se destaca como o AOV em maior quantidade ao longo todo o ensaio. Os ácidos predominantes em termos de concentrações são, respectivamente o ácido propiónico, o n-butírico, o acético e o n-valérico. Ao nível da maior concentração total de AOV's produzidos esta foi detectada no 7º e 21º dia , com 5002 e 5057 mg de ácido acético/L respectivamente, coincidindo com o máximo de produção do ácido propiónico e ácido n-valérico. Como a partir do 4º dia a concentração de ácido propiónico é superior a 900 mg/L (1107 mg ácido acético/L) conclui-se que houve inibição da metanogénese Wang et al (2009). (Tabela 5).

Verifica-se uma diminuição acentuada na concentração de AOV's para a maior parte dos ácidos analisados (á exceção do ácido i-valérico e i-butírico) a partir do 7º dia em que a produção é máxima, sendo o mínimo atingido no 10º dia com uma concentração total de AOV's produzidos de 3714 mg de ácido acético/L.

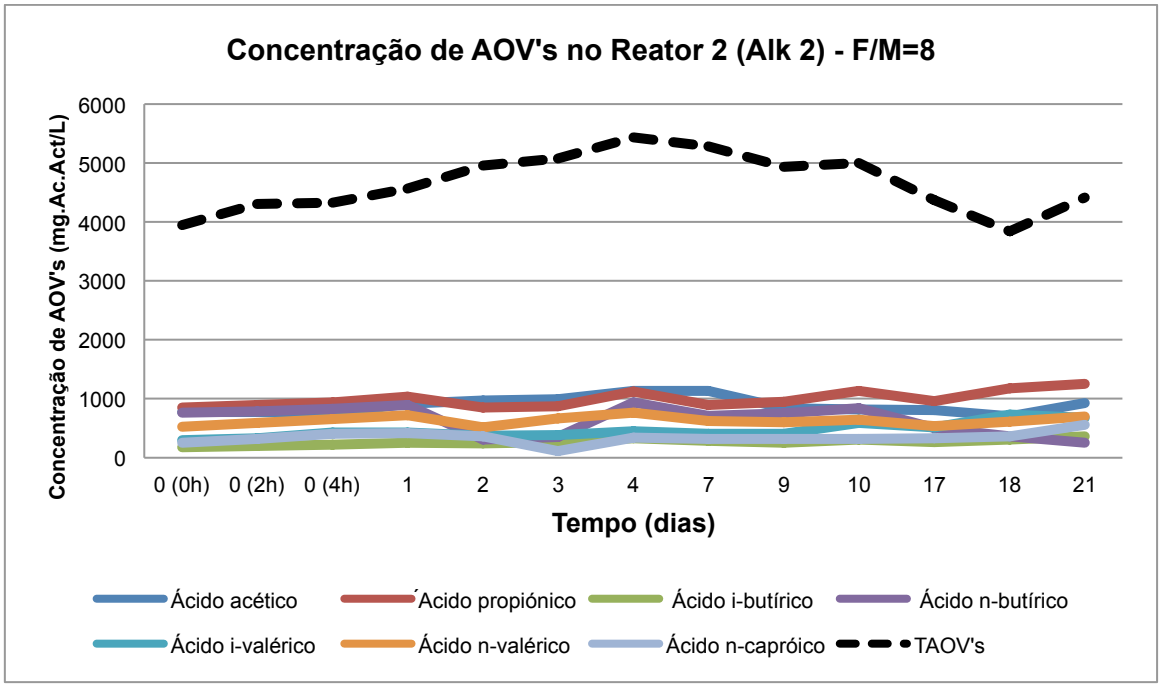


Figura 24 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R2 para uma alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L e F/M=8 a T=37ºC.

Na análise do gráfico da Figura 24 respeitante á variação temporal da concentração de AOV's no para o reator R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L /L verifica-se, à semelhança do reator R1, a presença de todos os AOV's durante a monitorização do ensaio. Os ácidos com maior concentração são o ácido propiónico, o acético, o n-butírico e o n-valérico, sendo o ácido propiónico o que apresenta a maior concentração atingindo 1250 mg como ácido acético/L no 21º dia. A concentração de ácido propiónico é superior a 900 mg/L (1107 mg ácido acético/L) a partir do 4º dia o que permite concluir que houve inibição da metanogénese (Tabela 5).

Detecta-se para a quase totalidade dos ácidos presentes (á exceção do ácido acético) um decréscimo da sua concentração no 1º dia e no 18º dia no qual se verifica o mínimo de produção total de AOV's com 3842 mg como ácido acético/L.

A concentração total de AOV's produzidos atingiu o seu máximo de 5435 mg como ácido acético/L no 4º dia.

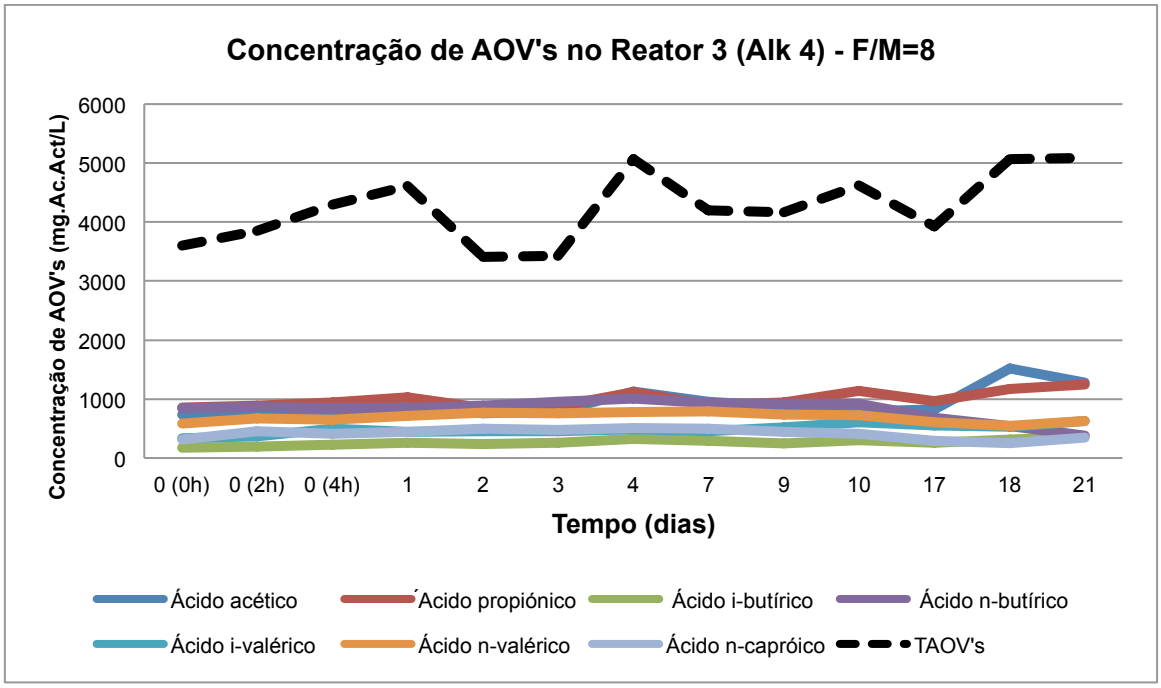


Figura 25 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R3 para uma alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L e F/M=8 a T=37ºC.

Á semelhança do que se verificou para o R1 e R2 deste ensaio 1, detecta-se a totalidade dos ácidos analisados no reator 3 (Figura 25). Também se verifica a predominância em termos de concentração os ácidos propiónico, o acético, o n-butírico e o n-valérico.

A concentração total de AOV's produzidos alcançou o seu máximo de 5063 mg de ácido acético/L no 4º dia e 5091 mg de ácido acético/L no 21º dia, coincidindo com o dia de concentração máxima de ácido propiónico com 1250 mg de ácido acético/L. De salientar o aumento acentuado da concentração de ácido acético no entre o 17º e o 18º dia, atingindo neste último o valor de 1518 mg de ácido acético/L. Verifica-se uma vez mais a presença de ácido propiónico em concentração superior a 900 mg/L no 4º, 10º dia e a partir do 17º dia.

De forma global, apresenta-se na Figura 26 a composição de AOV's para os dias de maior produção do ensaio 1:

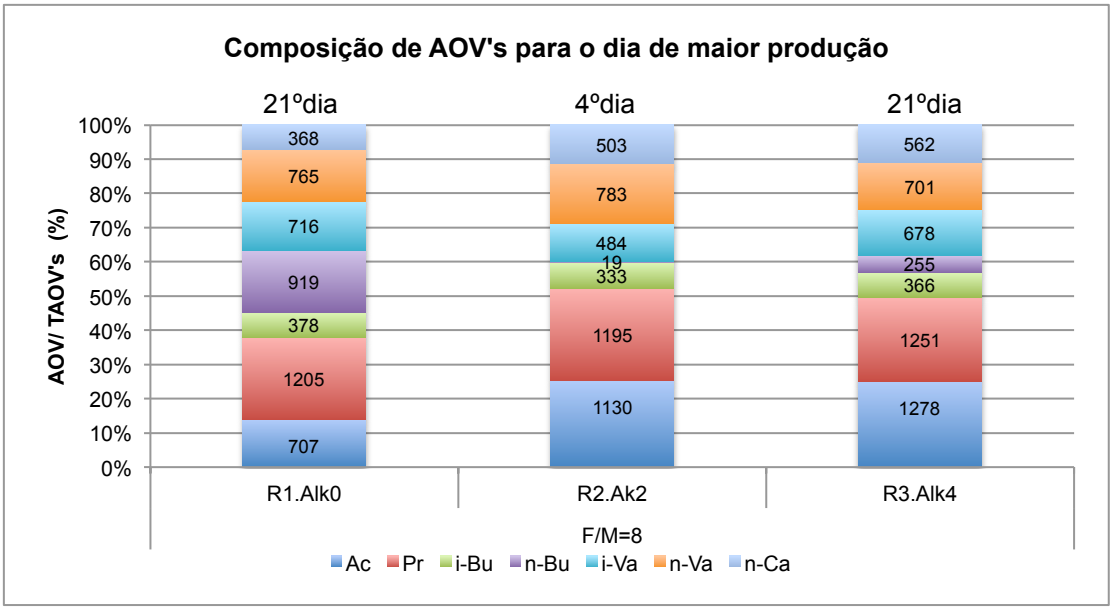


Figura 26 - Composição de AOV's para o dia de maior produção de TAOV's - F/M=8 a T=37ºC

Para o reator 1, os AOV's com maior presença em termos do total de produção para o dia 21º dia são o ácido propiónico e n-butírico, os quais apresentam os maiores valores respectivamente: 1205 mg e 919 mg como ácido acético. As respetivas percentagens não ultrapassam os 25%.

No reator 2, para o dia de maior produção de AOV's, os AOV's com maior presença são o ácido propiónico e acético respetivamente com 1195 e 1130 mg como ácido acético. Em termos de percentagem temos percentagens de cerca de 25%.

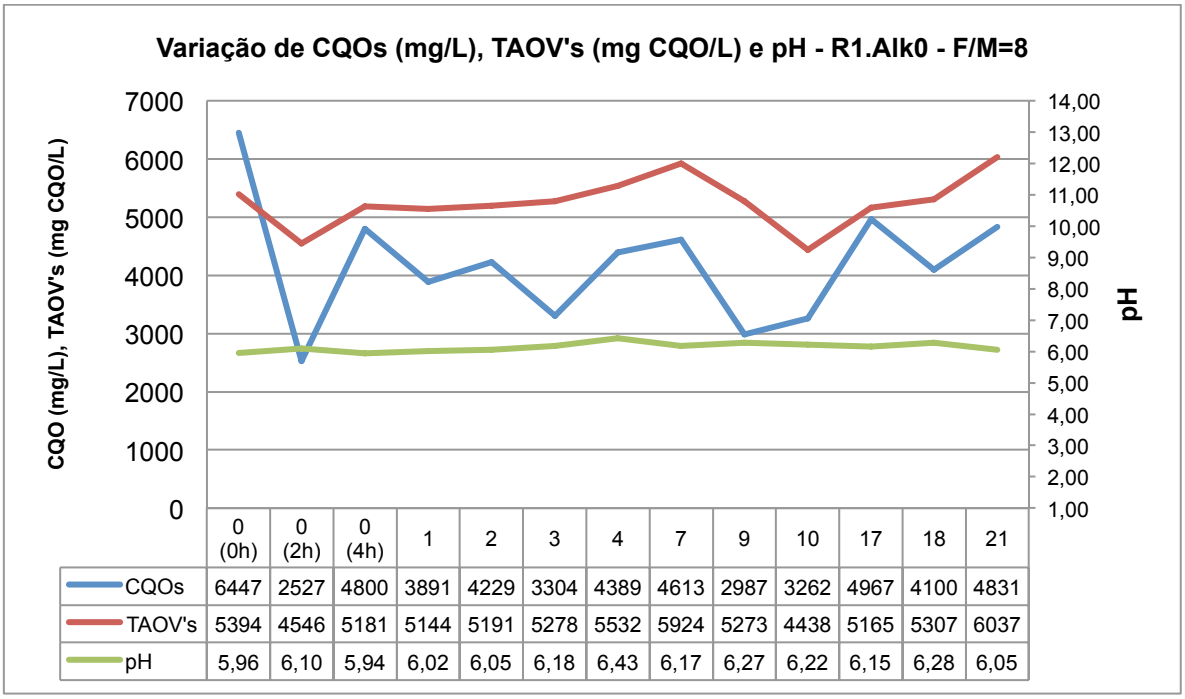
Para o reator 3 os AOV's com maior presença são os mesmos dos ensaio 2, o ácido propiónico e acético, (1251 e 1278 mg como ácido acético) no entanto apresentando o ácido acético um valor superior ao do propiónico. A percentagem para ambos os ácidos é cerca de 25%.

As percentagens que se pretendiam em termos de ácido propiónico e acético, 30% e 70% (Silva, 2012) não são verificadas.

5.2.6 Perfil de Carência Química de Oxigénio – CQO (mg/L), produção Total de Ácidos Voláteis – TAOV's (mg CQO/L) e pH.

Pela importante relação entre as variáveis CQOs, pH e o Total de AOV's formados ao longo de cada ensaio, realiza-se a sua análise em paralelo.

Apresenta-se para o Ensaio 1 a análise da concentração de CQOs em mg de CQO/L, TAOV's em mg de CQO/L e pH para os reatores em análise (R1. Alk0, R2. Alk2 e R3. Alk4) em função do período temporal em que foram operados (Figura 27, 28 e 29):



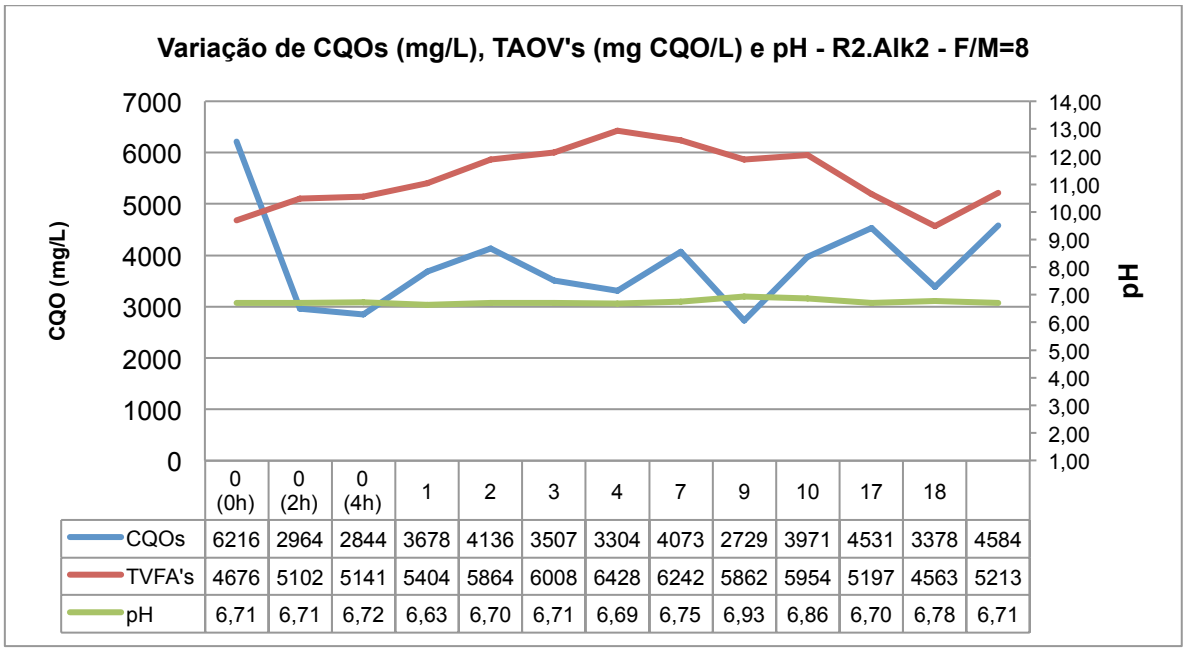
	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	9	10	17	18	21
CQOs	6447	2527	4800	3891	4229	3304	4389	4613	2987	3262	4967	4100	4831
TAOV's	5394	4546	5181	5144	5191	5278	5532	5924	5273	4438	5165	5307	6037
pH	5,96	6,10	5,94	6,02	6,05	6,18	6,43	6,17	6,27	6,22	6,15	6,28	6,05

Figura 27 –Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 1, respeitante ao R1 com alcalinidade nula – 0 g $CaCO_3$/L .

O perfil de produção total de AOV's observado na figura (Figura 27) acompanha como esperado, a variação de CQOs. No entanto, o valor de TAOV's verifica-se como sendo superior ao de CQOs ao longo de praticamente todo o ensaio, não sendo este comportamento expectável. Este incremento pode ser explicado pelas interferências induzidas pela sujidade presente na coluna do cromatógrafo, facto muitas vezes referenciado em ocasiões de manutenção deste aparelho por um técnico especializado. É importante também salientar que a concentração de TAOV's em CQO é teórica.

Os picos de maior produção de AOV's são congruentes com descidas de pH, o que se espera numa análise de perfil entre estes dois parâmetros. A descida esperada dos valores de CQOs verifica-se, variando em média na maior parte do período de operação do ensaio entre os

3200 mg/L e 4600 mg/L. É no último dia de amostragem (21ºdia) que se verifica a maior produção TAOV's com a presente descida do valor de pH registado.

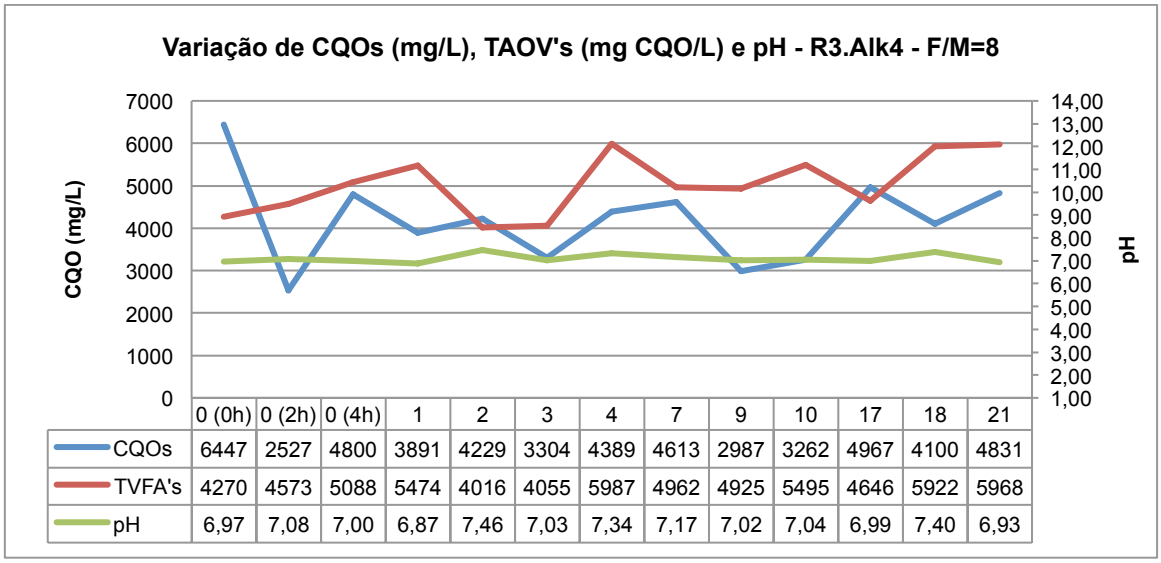


	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	9	10	17	18	
CQOs	6216	2964	2844	3678	4136	3507	3304	4073	2729	3971	4531	3378	4584
TVFA's	4676	5102	5141	5404	5864	6008	6428	6242	5862	5954	5197	4563	5213
pH	6,71	6,71	6,72	6,63	6,70	6,71	6,69	6,75	6,93	6,86	6,70	6,78	6,71

Figura 28 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 1, respeitante ao R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L .

Na análise do gráfico da figura acima apresentada (Figura 28) respeitante ao reator R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L verifica-se á semelhança do reator R1 para alcalinidade nula, um perfil de produção total de AOV's similar ao de CQOs. Da mesma forma o valor de TAOV's mantem-se superior ao de CQOs ao longo de praticamente todo o ensaio, e da mesma forma, dado que a análise de AOV's decorreu durante o mesmo dia que as anteriores, a explicação atribuída é a mesma (incremento do valor TAOV's devido a sujidade residual na coluna do cromatógrafo).

Da mesma forma os períodos de maior produção total de AOV's correspondem a a valores de CQOs superiores e descidas no valor de pH. Assim picos de maior produção de AOV's são proporcionais às descidas de pH, o que se espera numa análise de perfil entre estes dois parâmetros. A maior produção de AOV's verifica-se no 4º dia com 6242 mg CQO /L.



	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	9	10	17	18	21
CQOs	6447	2527	4800	3891	4229	3304	4389	4613	2987	3262	4967	4100	4831
TVFA's	4270	4573	5088	5474	4016	4055	5987	4962	4925	5495	4646	5922	5968
pH	6,97	7,08	7,00	6,87	7,46	7,03	7,34	7,17	7,02	7,04	6,99	7,40	6,93

Figura 29 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 1, respeitante ao R3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L .

Na análise obtida para o reator R3 (Figura 29) cuja alcalinidade corresponde a 4 g $NaHCO_3$/L, o maior valor de alcalinidade utilizado, observa-se igualmente um perfil de produção total de AOV's superior ao de CQOs o que não seria de esperar. Da mesma forma, uma vez que as medições decorreram todas no mesmo espaço temporal, as justificações já apresentadas são as mesmas. De salientar que aquando a utilização do cromatógrafo para medição de AOV's, eram realizados "brancos" que correspondiam a testes que procuravam minimizar e/ou detectar as interferências induzidas pela utilização do aparelho. Estas medições, dado o seu perfil evolutivo seriam alvo de repetição, mas a indisponibilidade de utilização do cromatógrafo impediu a confirmação da justificação apresentada.

Verifica-se que a produção de AOV's reduz o valor de pH, verificando-se para os maiores picos de produção de AOV's a descida deste. O perfil de CQOs de forma geral acompanha o perfil de TAOV's.

5.2.7 Rendimento de conversão de CQO a AOV

A produção de AOV's é a melhor medida de eficiência geral considerando o objectivos que norteiam o trabalho apresentado. Deste modo apresenta-se a conversão de CQO a AOV's em % ao longo do período de análise para o Ensaio 1 com base no valor TAOV's (Figura 30):

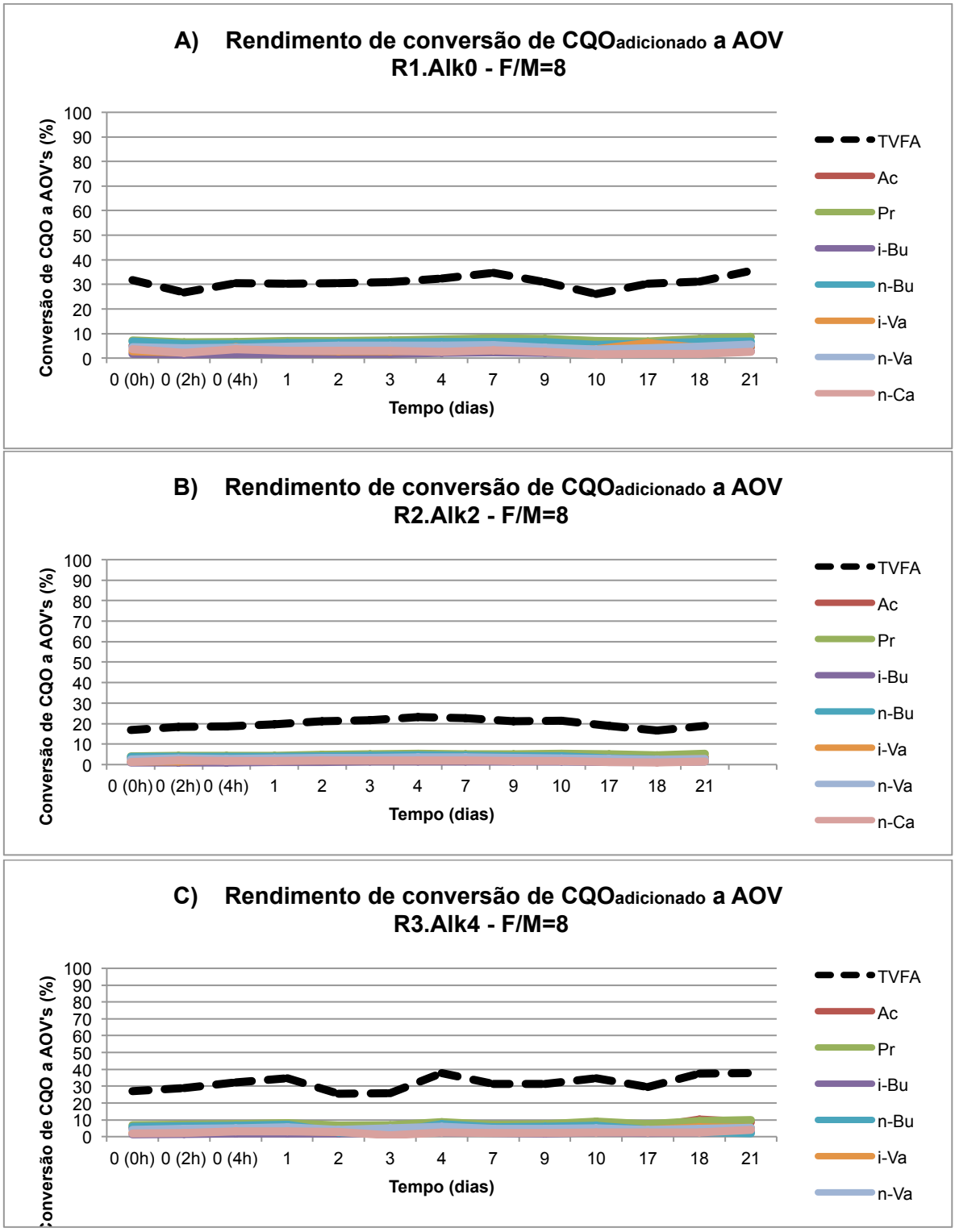
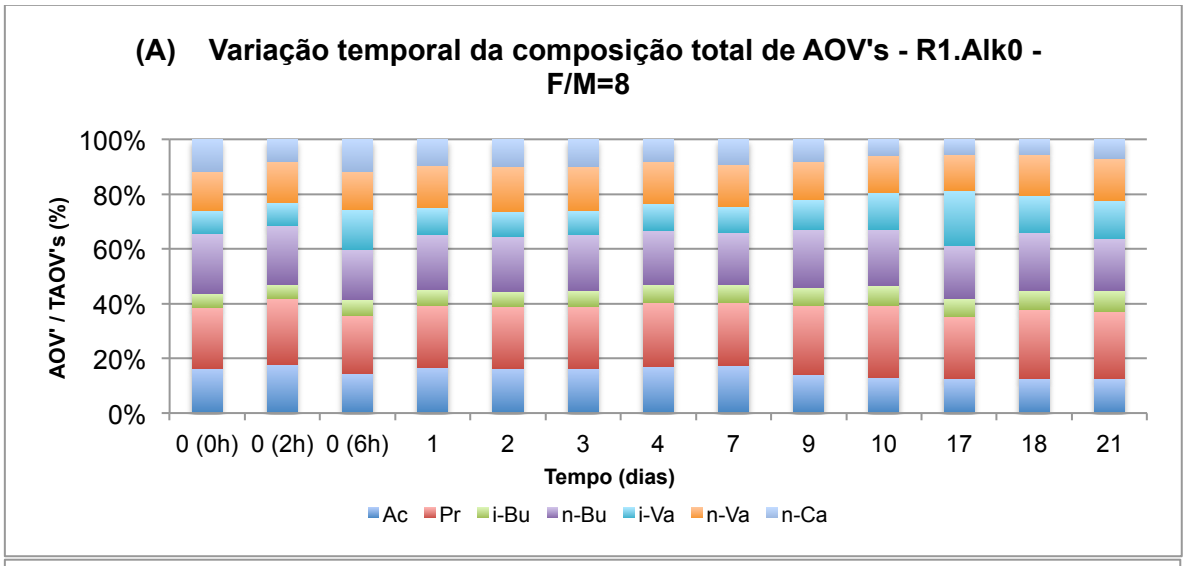


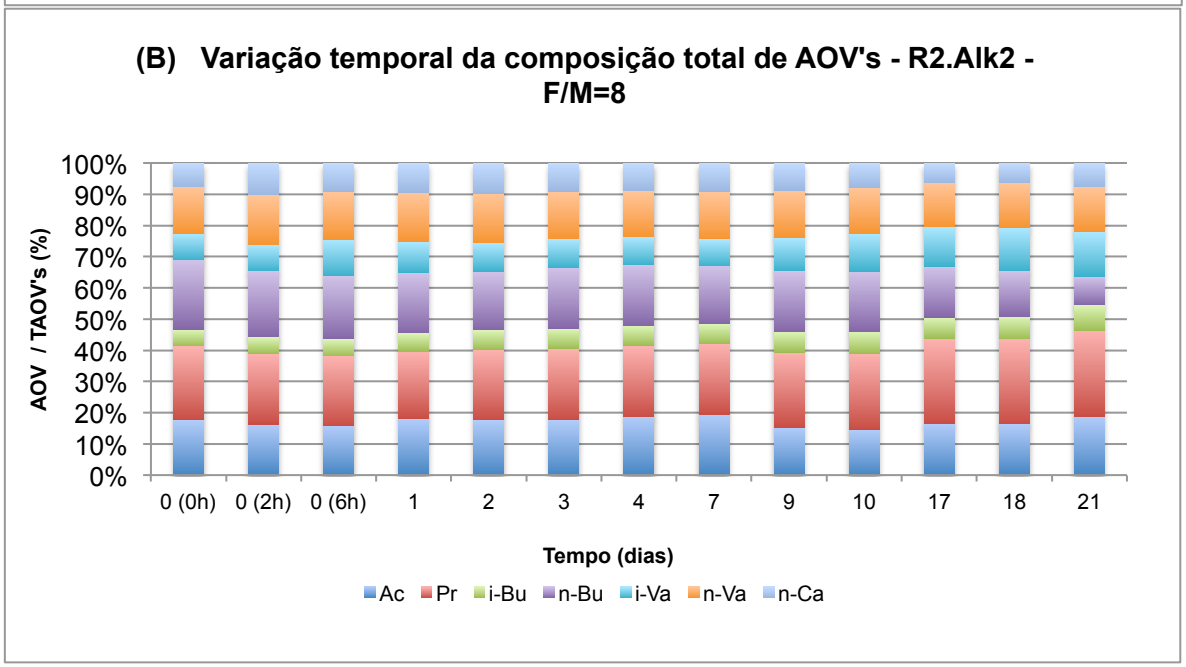
Figura 30– Rendimento da conversão de CQO adicionado a AOV's em % para o período experimental referente ao 1º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L

Pela análise dos gráficos da figura (Figura 30) observa-se que a conversão de CQO a AOV's ao longo dos ensaios é baixa em todos os reatores não ultrapassando para o TAOV's os 40%. A percentagem de conversão é maior com 37,8%, para o reator 3 de alcalinidade 4 g $CaCO_3$/L. Para o reator 1 e 2 a conversão de CQO a AOV's verifica-se com maior regularidade face aos resultados obtidos para o reator 3 de maior alcalinidade.

5.2.8 Composição em termos de % AOV's no Ensaio 1

Apresenta-se para o total de AOV's produzidos a sua composição em % respectivamente para o reator R1, R2 e R3 do ensaio 1 (Figura 31):





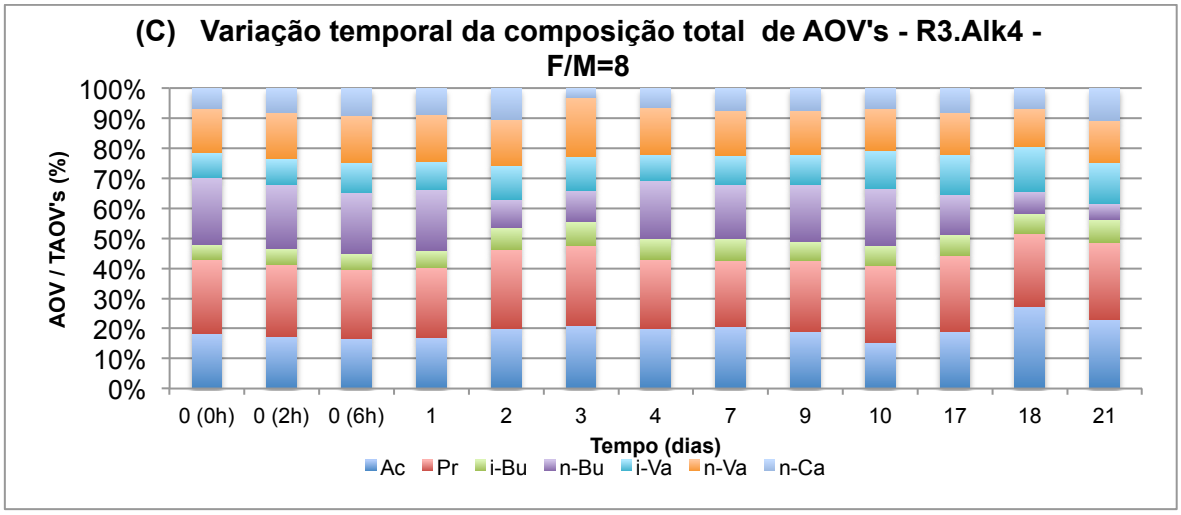


Figura 31 – Variação temporal da composição total de AOV´s em % para o período experimental referente ao 1º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L.

Os AOV's com maior presença em termos do total de produção são referentes aos ácidos acético, propiónico e n-butírico, os quais apresentam os maiores valores respectivamente: ácido acético para o reator 3, ácido propiónico e n-butírico para o reator 2. Por sua vez, as menor % verificam-se para o ácido n-capróico para o reator 3, sendo a menor percentagem verificada no 6º dia. As maiores percentagens são referentes aos ácidos acético, propiónico e n-butírico, os quais apresentam os maiores valores respectivamente: ácido acético 27,34% para o reator 3, ácido propiónico 27,46% e n-butírico 22,32% para o reator 2.

5.2.9 Resumo dos resultados experimentais de AOV's – Ensaio 1

De forma a expor os resultados relativos ao 1º ensaio de uma forma mais concisa, apresenta-se a tabela seguinte (Tabela 19) com os principais resultados relativos á produção de AOV's para os três reatores operados durante este ensaio na razão F/M=8.

Tabela 19 - Quadro resumo dos resultados obtidos no 1º ensaio relativamente á produção de AOV's

	Máximo TAOV's (mg.Ac/L)	Máximo AOV (mg.Ac/)	máx AOV's em TAOV's (%)	Conversão TAOV's (%)
R1 Alk 0	5057 (21ºdia)	1204 (ác. Propiónico)	26,52 (ác. Propiónico)	35,4 (21ºdia)
R2 Alk 2	5435 (4ºdia)	1250 (ác. Propiónico)	27,46 (ác. Propiónico)	23,2 (4ºdia)
R3 Alk 4	5063 (21ºdia)	1518 (ác. Acético)	27,34 (ác. Acético)	37,8 (21ºdia)

Pela análise dos resultados expostos anteriormente nas Figuras 23,24 e 25 relativos á produção de AOV's relativos ao ensaio com F/M=8 e diferentes alcalinidades aplicadas (R1. Alk0, R2. Alk 2 e R3. Alk4) é possível constatar a presença de todos os AOV´s que são analisados no presente trabalho experimental. Os perfis de variação da produção de AOV's ao longo do tempo apresentam-se como bastante similares entre si para cada reator isoladamente.

Constata-se também que os ácido predominantes são o ácido propiónico, acético, n-butírico e n-valérico para todos os reatores. Qualitativamente, Demirel e Yenigün (2006) obtiveram maioritariamente como produtos de acidogénese para águas residuais de uma industria de lacticinios, os ácidos acético, propiónico, butírico e valérico, o que se verifica para este ensaio.

A concentração total de produção de AOV's é máxima no reator R2, com 5435 mg ácido acético/L, sendo que os valores detectados para as diferentes alcalinidades impostas não se encontram muito desfasados entre si. A maior produção de ácido acético, verifica-se no reator R3 com 1518 mg ácido acético/L. Relativamenent

Segundo Arroja et al. (2012) a alcalinidade é um dos factores que influencia mais claramente a concentração máxima atingível de AOV's (além da carga orgânica), sendo que este máximo é proporcional ao aumento destas variáveis enunciadas. Tal citação refere-se a ensaios realizados com lamas DAF á mesma temperatura abordada neste trabalho experimental, T=37ºC em reatores também Batch com diferentes alcalinidades entre si variando entre 0 e 10 g $CaCO_3$/L. Para este ensaio (ensaio1) tal perfil não se verificou totalmente, sendo que a produção de AOV's foi máxima para o reator R2 (Alk = 2) .

Em testes realizados pela mesma fonte citada, o maior pico de concentração de AOV's (5356 mg Ac L-1) foi obtido a 37ºC por uma carga de 30 g CQO L-1 com alcalinidade e sem controlo de pH.

De forma geral, verifica-se pelas figuras respeitantes á análise dos parâmetros CQOs, TAOV's e pH (Figuras 27, 28 e 29) que a produção de AOV's reduz o valor de pH, verificando-se

para os maiores picos de produção de AOV's a descida deste. O perfil de CQOs de forma geral acompanha o perfil de TAOV's.

As maiores percentagens em termos de composição de AOV's (Figuras 31) são referentes aos ácidos acético, propiónico e n-butírico, os quais apresentam os maiores valores respectivamente: ácido acético 27,34% para o reator 3, ácido propiónico 27,46% e n-butírico 22,32% para o reator 2.

A a maior percentagem de conversão de CQO adicionado a AOV's verifica-se no reatores com maior adição de alcalinidade, 37,8% pelo que é possível consider que o aumento da alcalinidade promove uma maior conversão de CQO a AOV's, o que também Arroja et al. (2012) verifica para o mesmo substrato em estudo. No entanto este comportamento não é linear uma vez que o reator 2 (Alk = 2) tem uma percentagem de conversão inferior ao reator 1 sem adição de alcalinidade.

5.3 ENSAIO 2

Para o presente ensaio, são apresentados tal os resultados do processo de acidificação do conjunto lamas DAF/biomassa para um período temporal de monitorização de 31 dias aquando a sua finalização.

Uma vez que o anterior ensaio foi relativo a um F/M de 8 ao invés de 20 tal como definido, realiza-se assim este segundo ensaio com um F/M de 20 e com iguais valores de alcalinidade 0, 2 e 4 g CaCO3 para os três reatores utilizados, traduzindo-se assim, na matriz adoptada apresentada na tabela seguinte (Tabela 20). É utilizada a mesma nomenclatura para identificação dos reatores Ra. Alkb. em que "a" corresponde ao número de reator e "b" ao valor de alcalinidade (em g $CaCO_3$/L) utilizada.

Tabela 20 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para o Ensaio 2

		Alcalinidade (g CaCO3/L)		
		0	2	4
F/M	20	R1. Alk 0	R2. Alk 2	R3. Alk 4

5.3.1 Caracterização do substrato e biomassa utilizada - parâmetros operacionais

Para a execução do ensaio foi realizada uma caracterização das lamas DAF e da biomassa utilizadas no mesmo, sendo os resultados obtidos apresentados na tabela seguinte – Tabela 21.

Tabela 21 - Caracterização inicial das lamas DAF e biomassa utilizada no ensaio 2

	Lamas DAF			**Lamas biológicas**	
	CODt (g COD/L)	**CODs** (gCOD/L)	**pH**	**SST (g/L)**	**SSV (g/L)**
Ensaio **2**	155,00	66,67	5,78	20,02	14,4

A cada um dos três reatores foram adicionadas quantidades previamente determinadas que compreendem respectivamente os valores apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 - Caracterização do conteudo dos reatores utilizados no ensaio 2

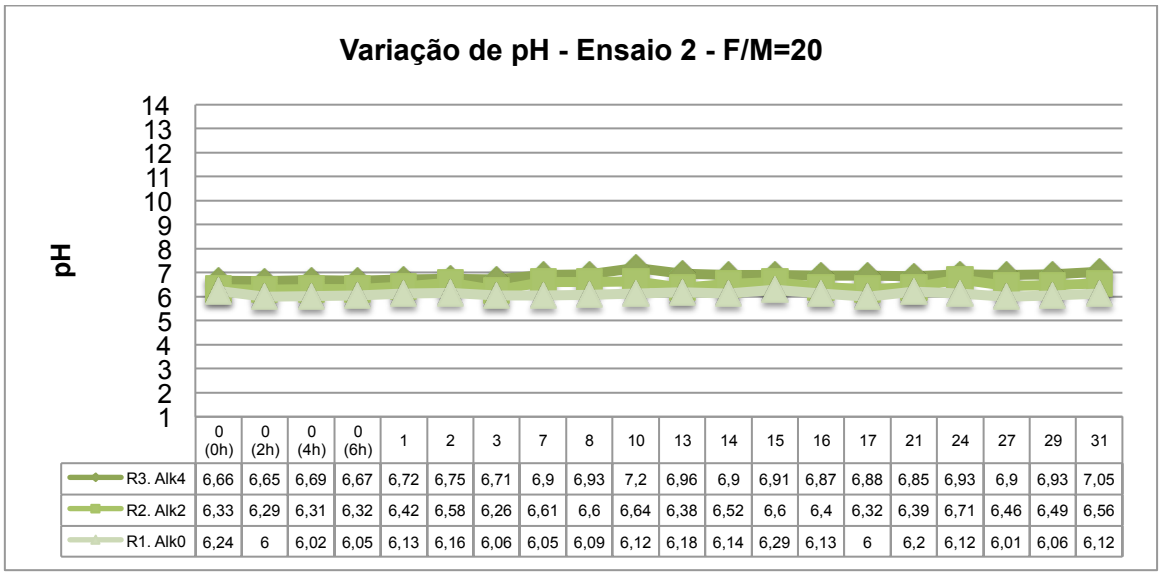
	F/M	Lamas DAF	Lamas biológicas	Solução de alcalinidade	nutrientes		H2O destilada
					I	II	
	-	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)		(mL)
R1. Alk 0	20	708,33	1316,13	0	5,1	10,2	3060,24
R2. Alk 2	20	708,33	1316,13	171,36	5,1	10,2	2888,88
R3. Alk 4	20	708,33	1316,13	342,72	5,1	10,2	2717,52

De igual modo, os valores apresentados são relativos a cálculos para um volume total de cada reator de 5,1 L tal como afirmado anteriormente. Aquando a selagem é realizado o mesmo procedimento com azoto gasoso de modo a promover a anaerobiose nos reatores.

5.3.2 Perfis temporais das variáveis de monotorização do sistema

5.3.2.1 Evolução do pH

Nas amostragens realizadas durante a monitorização do ensaio 2 o pH foi determinado. A sua evolução temporal ao longo do ensaio encontra-se apresentada na figura seguinte (Figura 32).



	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	0 (6h)	1	2	3	7	8	10	13	14	15	16	17	21	24	27	29	31
R3. Alk4	6,66	6,65	6,69	6,67	6,72	6,75	6,71	6,9	6,93	7,2	6,96	6,9	6,91	6,87	6,88	6,85	6,93	6,9	6,93	7,05
R2. Alk2	6,33	6,29	6,31	6,32	6,42	6,58	6,26	6,61	6,6	6,64	6,38	6,52	6,6	6,4	6,32	6,39	6,71	6,46	6,49	6,56
R1. Alk0	6,24	6	6,02	6,05	6,13	6,16	6,06	6,05	6,09	6,12	6,18	6,14	6,29	6,13	6	6,2	6,12	6,01	6,06	6,12

Figura 32 - Evolução temporal do valor de pH para os reatores do Ensaio 2 (F/M=20).

Não foi realizada nenhuma correção de pH no decorrer da monitorização dos ensaios, no entanto uma vez que constitui um parâmetro importante na manipulação de reatores anaeróbios a sua determinação é realizada.

Pela análise da Figura 32 verifica-se que a variação de pH relativa ao reator R3.Alk 4 se encontra no intervalo referido por Foresti (1993) – 6,8-7,5. Verifica-se que os valores de pH são mais elevados para o reator com maior alcalinidade, ou seja, com uma maior adição de $NaHCO_3$. Esta constatação é coerente uma vez que estes dois parâmetros se encontram intrinsecamente relacionados.

Os valores de pH obtidos, de forma geral para os três reatores, mantêm-se constantes, com variações até um máximo de pH=0,5. Uma vez mais verifica-se o papel fundamental da alcalinidade na manutenção do pH, restringindo eventuais variações bruscas deste parâmetro que possam ocorrer e afectar significativamente a atividade microbiana.

5.3.2.2 Alcalinidade

Os valores correspondentes á determinação do efetivo valor de alcalinidade correspondente a cada reator face ao valor imposto inicialmente são apresentados na tabela seguinte – Tabela 23.

Tabela 23 - Valores de alcalinidade obtidos para os reatores referentes ao Ensaio 2.

	Alcalinidade (g $CaCO_3$ /L)		
	R**1.** Alk **0**	R**2.** Alk **2**	R**3**. Alk**4**
Objetivo	0	1,45	2,06
Inicio	2	2,14	2,75
Final	4	3,46	4,00

Tal como verificado no ensaio anterior, os valores de alcalinidade determinados inicialmente não correspondem aos que se impõem, á exceção do reator R3 em que a alcalinidade do inicio por incremento alcança o valor que se pretendia.

A discrepância é mais notória para o reator R1. Alk0 em que se assume que a alcalinidade será nula e tal não se verifica. Tal fato deve-se á relação deste parâmetro com o pH e ás próprias características do substrato adicionado e da própria biomassa.

Verifica-se que a alcalinidade final apresenta sempre um incremento relativamente ao valor determinado inicialmente. Tal como já referido, no final do ensaio o valor de alcalinidade é superior devido á acidez associada ás especificidades da microbiologia anaeróbia.

5.3.2.3 CQO total

Na figura seguinte são apresentados os valores médios de CQO total dos três reatores para o ensaio 2:

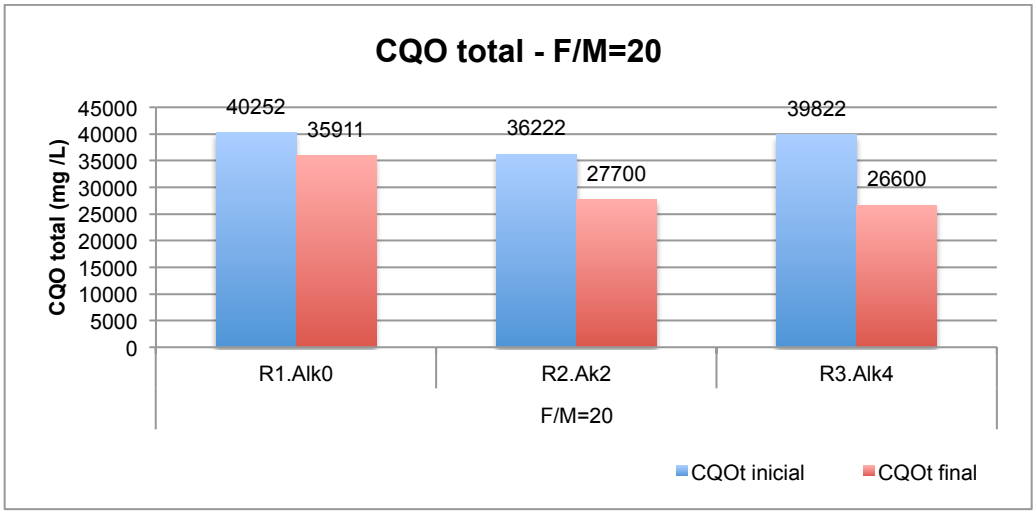


Figura 33- Valores de CQO total no inicio e no fim do ensaio 2.

Verifica-se pela análise da figura 33 que o CQO total inicial dos reatores apresentava valores entre 40252 mg/L e 36222 mg/L . No final do ensaio os valores de CQO total obtidos são mais baixos, com valores entre 35911mg/L e 26600mg/L.

É possível concluir que o substrato é biodegradável, sendo esta biodegradabilidade verificada após 31 dias com valores de 11% para R1.Alk0, 24% para R2. Alk2 e 33% e R3.Alk4.

5.3.3 Produção e composição de biogás na digestão anaeróbia do ensaio 2

Os resultados relativos á produção de biogás estão sujeitos a duas grandes interferências que se verificaram ao longo da sua monitorização e que foram mencionadas no ensaio 1 (a homogeneização manual dos reatores e a exposição solar que o laboratório apresenta).

A produção de biogás em termos percentuais em cada um dos três reatores (R1.Alk0, R2. Alk2 e R3.Alk4) está apresentada na Figura 34):

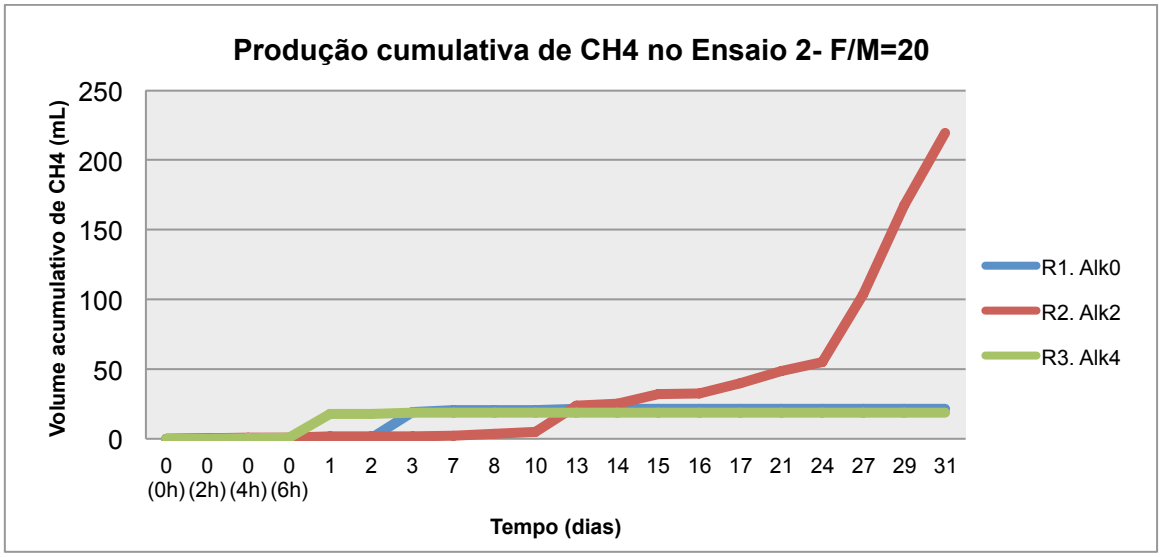


Figura 34 - Produção cumulativa de metano para os reatores R1 com alcalinidade nula, R2 com alcalinidade 2 e R3 com alcalinidade 4 (em g CaCO3/L) para uma razão de F/M=20 e T=37ºC.

Pela análise do gráfico apresentado na Figura 34, denota-se que a produção de metano no reator R1.Alk0 e R3. Alk4 foi muito mais reduzida que no reator R2.Alk2.

A presença de metano no reator de alcalinidade nula (R1) verifica-se no 2º dia. No R2. Alk2 a presença de metano só se verifica a partir do 9ºdia, fase que se considera como adaptativa dos microrganismos ao substrato, ou seja, uma fase se adaptação metabólica. Para o R3. Ak4 a produção de metano verifica- se logo no 1º dia.

A constância de produção de metano de igual modo para o ensaio 1, não foi preponderante para o fim do ensaio, uma vez que se pretende a acidificação do substrato com a inibição da metanogénese. Servem também os resultados já referidos, obtidos por Arroja et al (2012), que indicam que os tempos de operação necessários para atingir os picos de AOV's foram de 8-15 dias a 37 º C sem controle de pH. Verifica-se assim uma produção de metano para os reatores R1, R2 e R3 de respectivamente; 22mL, 219mL e 19mL.

5.3.4 Evolução Temporal dos Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's)

Apresenta-se para o Ensaio 2 a análise da concentração de AOV's em mg de ácido acético /L para os reatores em análise (R1. Alk0, R2. Alk2 e R3. Alk4) em função do período temporal em que foram operados (Figura 35, 36 e 37):

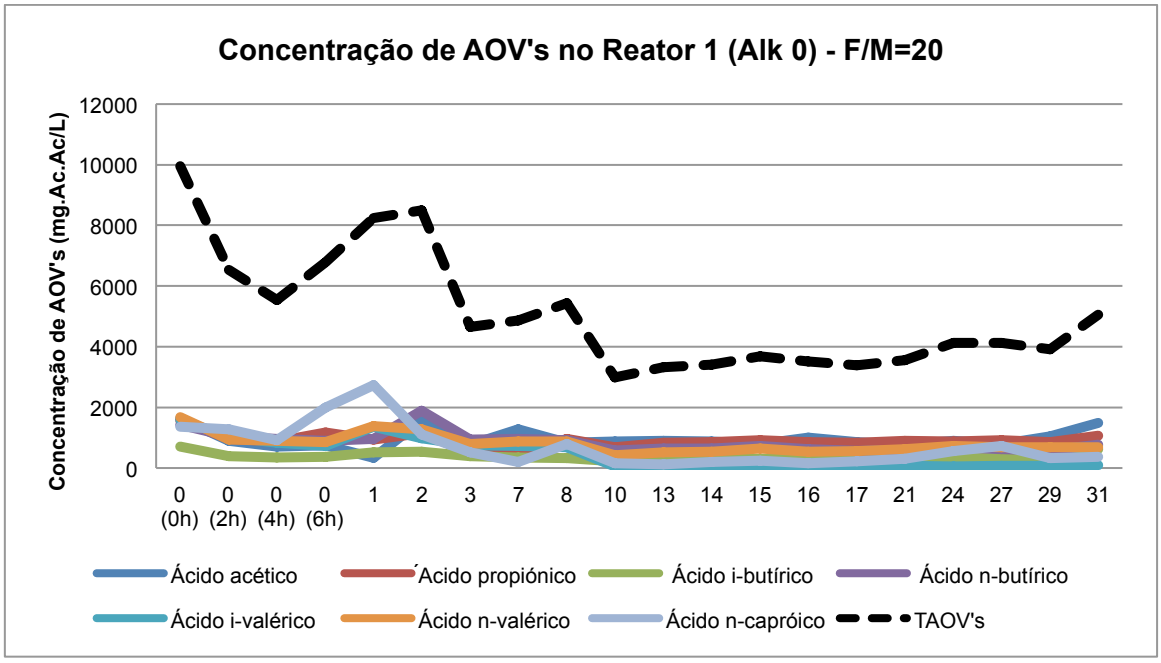


Figura 35 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R1 para uma alcalinidade nula e F/M=20 a T=37ºC.

Pelo gráfico apresentado na Figura 35 para o reator R1 com alcalinidade nula verifica-se a presença dos sete AOV's, sendo que o ácido acético, propiónico e n- butírico se apresentam como os AOV's com perfil mais constante ao longo todo o ensaio. Destaque para o ácido acético, n-capróico e n-butirico que atingem entre as primeiras horas do ensaio e o 2º dia os maiores valores em termos de concentração (em mg de ácido acético /L).

Como ácidos predominantes em termos de concentrações temos assim, respectivamente o ácido n-capróico, o n-butírico e o acético com 2741, 1888 e 1568 mg de ácido acético/L. Ao nível da maior concentração total de AOV's produzidos esta foi detectada nas 0 horas e 2º dia , com 9959 e 8505 mg de ácido acético/L respectivamente, coincidindo com o máximo de produção do ácido acético e ácido n-butírico.

Como ácido com menor representatividade em termos de produção surge o ácido i-butírico com um máximo de produção de 702 mg de ácido acético/L para as 0horas.

Verifica-se uma diminuição acentuada na concentração de AOV's para a maior parte dos ácidos analisados a partir do 10º dia em que a produção é minima para o i-valérico, sendo o mínimo atingido de TAOV's nesse dia com uma concentração total de AOV's produzidos de 50 mg de ácido acético/L.

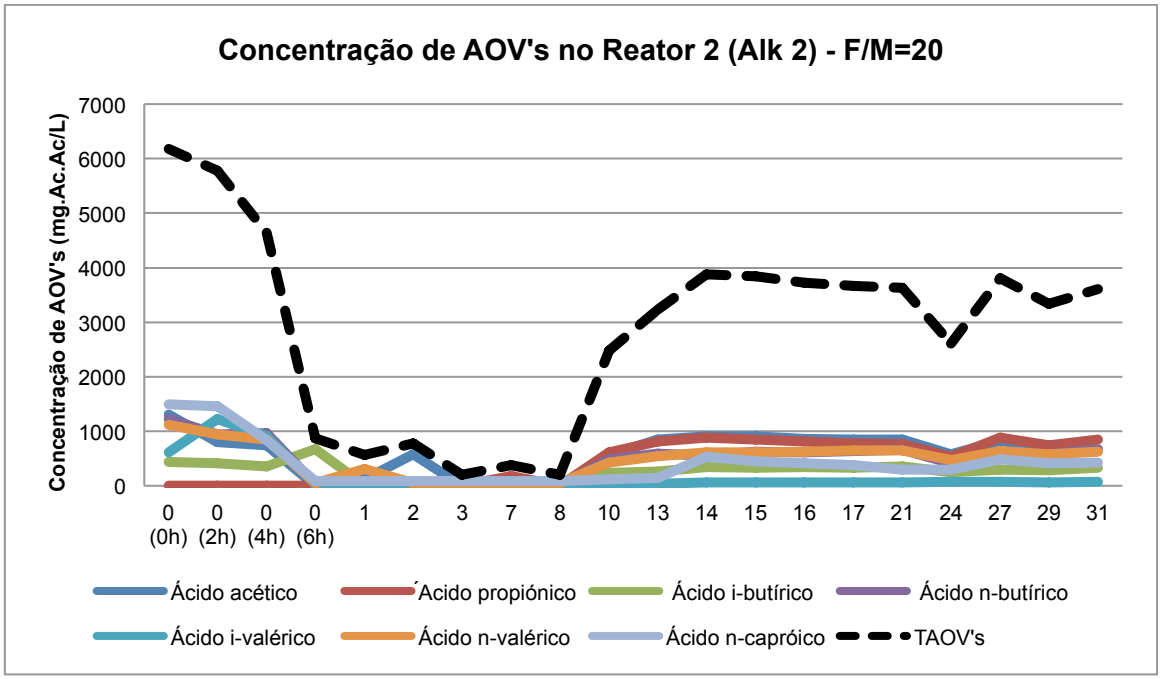


Figura 36 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R2 para uma alcalinidade 2 g $CaCO_3$/L e F/M=20 a T=37ºC.

Na análise do gráfico da Figura 36 respeitante á variação temporal da concentração de AOV's no para o reator R2 com alcalinidade de 2 g CaCO3/L verifica-se á semelhança do reator R1 a presença de todos os AOV's durante a monitorização do ensaio, embora com uma fase bastante prenunciada entre as primeiras 6 horas e o 8º dia de reduzida produção (á exceção do ácido acético) no qual se verifica o mínimo de produção total de AOV's com 196 mg de ácido acético/L.

Predominantemente temos como ácidos com maior concentração o ácido propiónico, o acético, o n-butírico e o n-valérico, sendo o seu perfil em termos de produção mais constante a partir do 10º dia. No entanto o ácido que apresenta a maior concentração é o n-capróico (1494 mg de ácido acético/L) sendo este máximo atingido logo na 1ª medição do ensaio (0 horas).

Por sua vez , o ácido com menor produção ao longo do ensaio constitui o ácido i-valérico, sendo que a sua produção (á exceção das primeiras horas) nunca ultrapassa as 80 mg de ácido acético/L produzido.

A concentração total de AOV's produzidos atingiu o seu máximo de 6178 mg de ácido acético/L nas 0 horas e no 14º dia com 3873 mg de ácido acético/L.

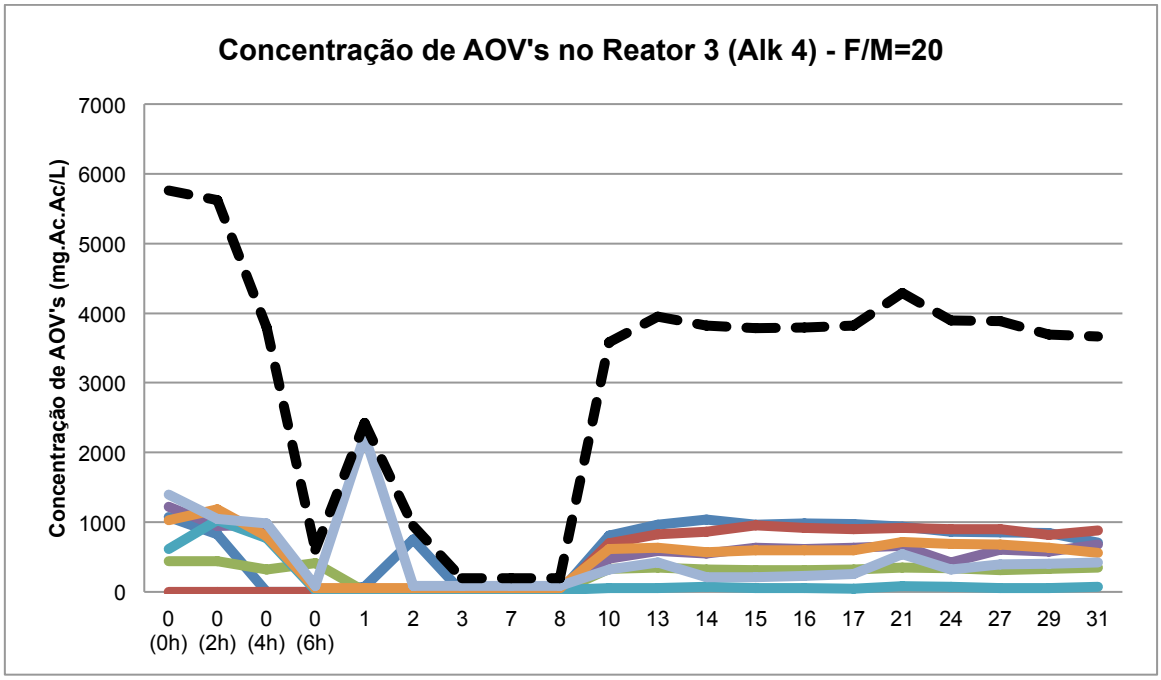


Figura 37 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R3 para uma alcalinidade 4 g $CaCO_3$/L e F/M=20 a T=37ºC.

Á semelhança do que se verificou para o R1 e R2 deste ensaio, detecta-se a totalidade dos ácidos analisados como presentes ao longo de todo o ensaio (Figura 37). Também se verifica a predominância em termos de concentração os ácidos propiónico, o acético, o n-butírico e o n-valérico, sendo este perfil da mesma forma como ocorreu para o anterior reator (R2) praticamente constante a partir do 10º dia.

A concentração total de AOV's produzidos alcançou o seu máximo de 5764 mg de ácido acético/L na primeira hora e 21º dia com 4288 mg de ácido acético/L, coincidindo com o dia de concentração máxima de ácido n-caproico e n-butírico com respectivamente 1398 e 1221 mg de ácido acético/L. De salientar que ocorre uma descida acentuada em termos produtivos entre as primeiras 6 horas e o 8º dia á semelhança do que ocorreu para o reator anterior (R2).

O ácido com menor representatividade uma vez mais foi o ácido i-valérico sendo que a sua produção (á exceção das primeiras horas) nunca ultrapassa as 80 mg de ácido acético/L produzido. De salientar a grande semelhança entre os perfis de concentração total de AOV's para os reatores 2 e 3, de respectivamente alcalinidade 2 e 4 g $CaCO_3$.

De forma global, apresenta-se na Figura 38 a composição de AOV's para os dias de maior produção do ensaio 2:

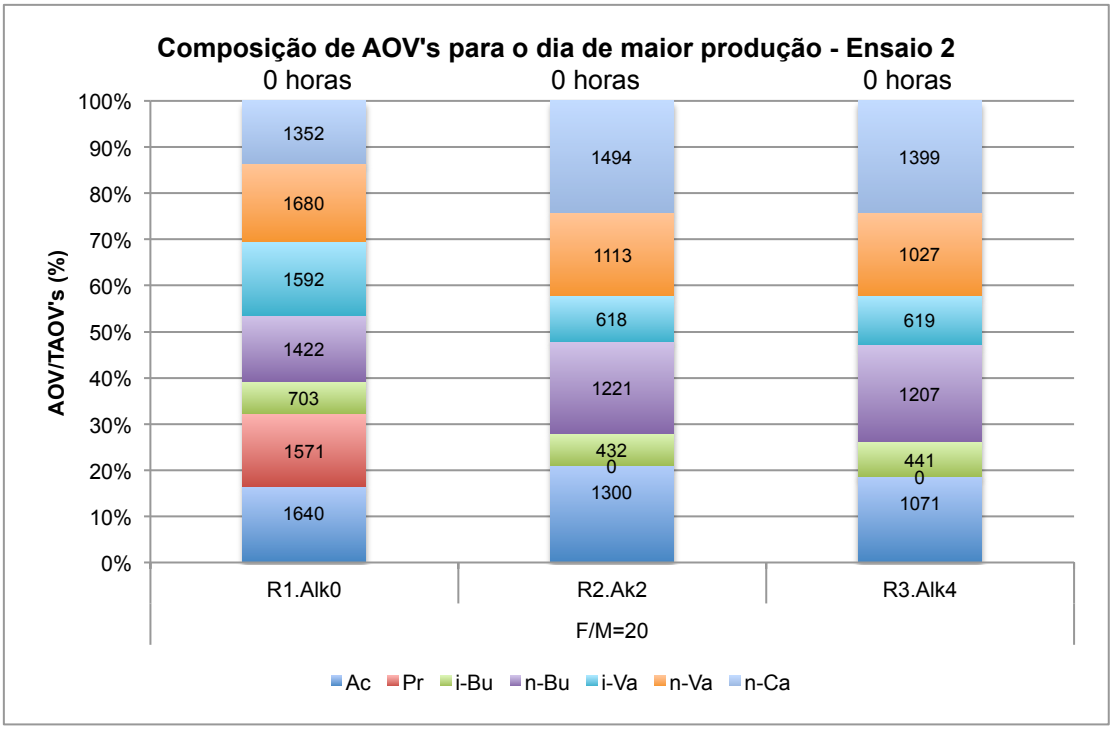


Figura 38 - Composição de AOV's para o dia de maior produção de TAOV's - F/M=20 a T=37ºC

O pico de AOV's para o 2º ensaio ocorre no incio da experiência, ás 0 horas. Para o reator 1, os AOV's com maior presença em termos do total de produção são o ácido n-valérico e acético respectivamente: 1680 mg e 1640 mg como ácido acético. As respetivas percentagens não ultrapassam os 20%.

No reator 2, para o dia de maior produção de AOV's, os AOV's com maior presença são o ácido n-capróico e acético respetivamente com 1494 e 1300 mg como ácido acético. Em termos de percentagem temos percentagens de cerca de 25%.

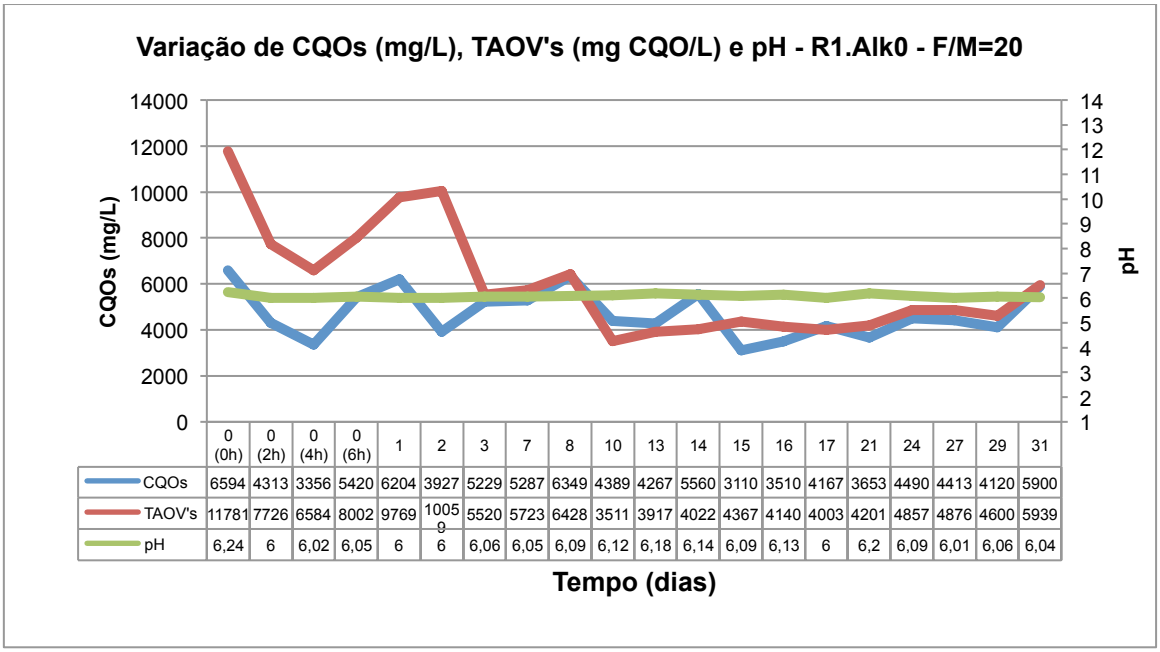
Para o reator 3 os AOV's com maior presença são, o ácido n-capróico e n-butirico, (1399 e 1207 mg como ácido acético). A percentagem para ambos os ácidos é inferior a 25%.

As percentagens que se pretendiam em termos de ácido propiónico e acético, 30% e 70% não são verificadas, sendo que não se verifica a presença de ácido propiónico no reator 2 e 3.

5.3.5 Perfil de Carência Química de Oxigénio – CQO (mg/L), produção Total de Ácidos Voláteis – TAOV's (mg CQO/L) e pH.

Pela grande relação entre as variáveis CQOs, pH e o Total de AOV's formados ao longo de cada ensaio e importância das mesmas, realiza-se a sua análise em paralelo.

Apresenta-se assim para o Ensaio 2 a análise da concentração de CQOs em mg de CQO/L, TAOV's em mg de CQO/L e pH para os reatores em análise (R1. Alk0, R2. Alk2 e R3. Alk4) em função do período temporal em que foram operados (Figura 39, 40 e 41):

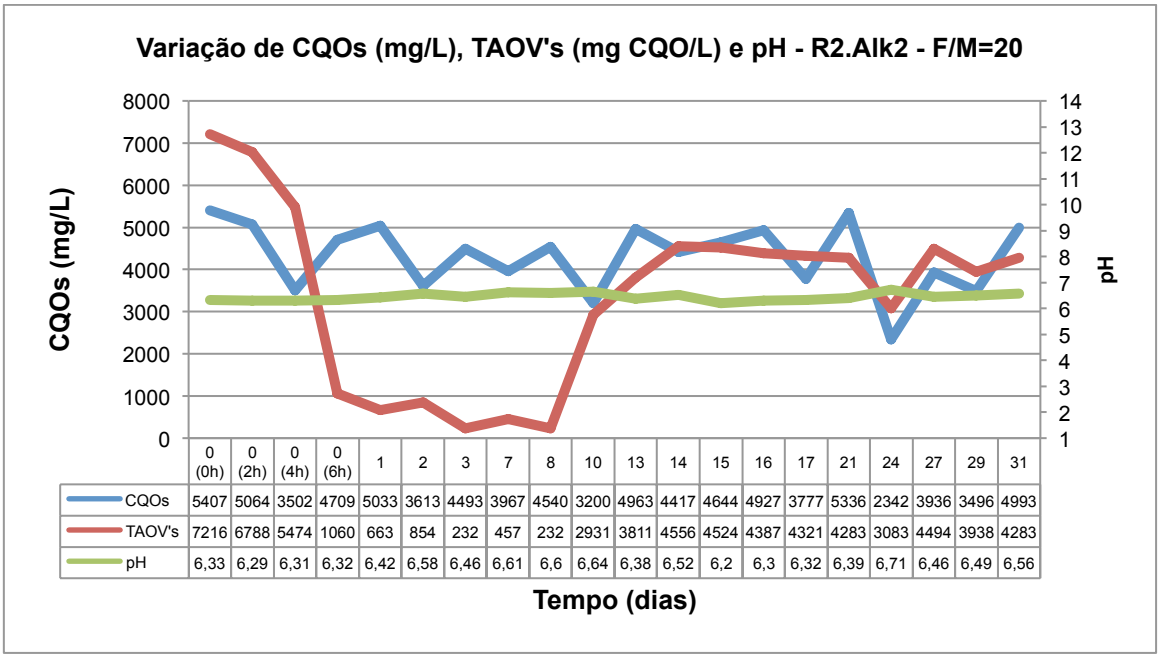


	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	0 (6h)	1	2	3	7	8	10	13	14	15	16	17	21	24	27	29	31
CQOs	6594	4313	3356	5420	6204	3927	5229	5287	6349	4389	4267	5560	3110	3510	4167	3653	4490	4413	4120	5900
TAOV's	11781	7726	6584	8002	9769	10050	5520	5723	6428	3511	3917	4022	4367	4140	4003	4201	4857	4876	4600	5939
pH	6,24	6	6,02	6,05	6	6	6,06	6,05	6,09	6,12	6,18	6,14	6,09	6,13	6	6,2	6,09	6,01	6,06	6,04

Figura 39 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 2, respeitante ao R3 com alcalinidade nula.

O perfil de produção total de AOV's observado na figura (Figura 39) acompanha como esperado, a variação de CQOs. No entanto, o valor de TAOV's verifica-se como sendo superior ao de CQOs para a fase inicial do ensaio até ao 3º dia, não sendo este comportamento expectável, mas associado á produção de AOV's que advêm do próprio substrato.

Os picos de maior produção de AOV's são congruentes com descidas de pH, o que se espera numa análise de perfil entre estes dois parâmetros, embora avariação de pH não seja muito acentuada ao longo do ensaio. A descida esperada dos valores de CQOs verifica-se, variando entre o inico de operação do ensaio entre os 6594 mg/L e o mínimo registado de 3110 mg/L. É no primeiro dia de amostragem que se verifica a maior produção TAOV's.

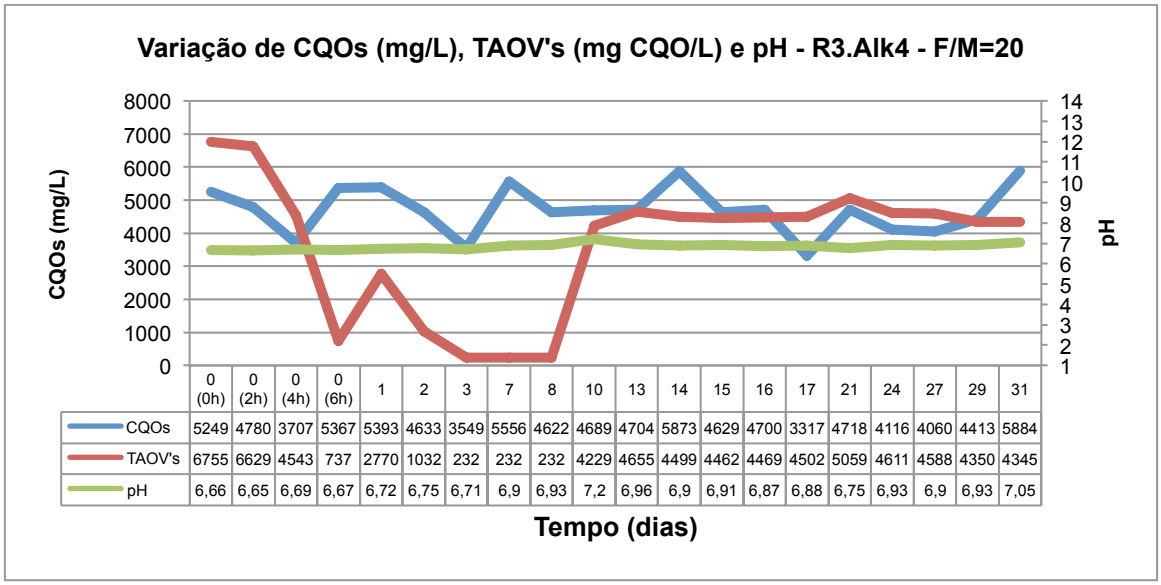


	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	0 (6h)	1	2	3	7	8	10	13	14	15	16	17	21	24	27	29	31
CQOs	5407	5064	3502	4709	5033	3613	4493	3967	4540	3200	4963	4417	4644	4927	3777	5336	2342	3936	3496	4993
TAOV's	7216	6788	5474	1060	663	854	232	457	232	2931	3811	4556	4524	4387	4321	4283	3083	4494	3938	4283
pH	6,33	6,29	6,31	6,32	6,42	6,58	6,46	6,61	6,6	6,64	6,38	6,52	6,2	6,3	6,32	6,39	6,71	6,46	6,49	6,56

Figura 40 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 2, respeitante ao R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$

Na análise do gráfico da Figura 40 respeitante ao reator R2 com alcalinidade de 2 g $NaHCO_3$/L verifica-se uma notória já referida descida na produção de AOV's entre as primeiras 6 horas e o 8º dia. Verifica-se uma acentuada produção no entanto de AOV's no inicio do ensaio (0h) que se sobrepõe ao CQOs, sendo que após as já referidas 8 horas o perfil dinâmico entre CQOs/pH/TAOv's se mantem como esperado, ou seja, as variações entre CQOs e TAOv's são semelhantes e para descidas de pH verificam-se picos de AOV's.

A maior produção de AOV's verifica-se assim nas primeiras horas com 7216 mg CQO /L e no 14º dia com 4556 mg CQO /L.



	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	0 (6h)	1	2	3	7	8	10	13	14	15	16	17	21	24	27	29	31
CQOs	5249	4780	3707	5367	5393	4633	3549	5556	4622	4689	4704	5873	4629	4700	3317	4718	4116	4060	4413	5884
TAOV's	6755	6629	4543	737	2770	1032	232	232	232	4229	4655	4499	4462	4469	4502	5059	4611	4588	4350	4345
pH	6,66	6,65	6,69	6,67	6,72	6,75	6,71	6,9	6,93	7,2	6,96	6,9	6,91	6,87	6,88	6,75	6,93	6,9	6,93	7,05

Figura 41 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 2, respeitante ao R3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$

Na análise obtida para o reator R3 (Figura 41) cuja alcalinidade corresponde a 4 g $NaHCO_3$/L, o maior valor de alcalinidade utilizado, temos igualmente um perfil semelhante ao já analisado para o reator R2 (com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L). Pelo que igualmente se verifica uma elevada produção de AOV's no arranque do ensaio e uma respectiva acentuada diminuição da mesma entre as primeiras 6horas e o 8º dia. A partir deste o perfil mantem-se como esperado, com variações de produção TAOV's que acompanha a de CQOs e descidas de pH para o aumento dos parâmetros anteriores.

De igual forma o pH mantem-se sem variações muito bruscas, variando entre 6,5 e 7,05, facto associado ao efeito tampão proporcionado pela adição de alcalinidade.

5.3.6 Rendimento de conversão de CQO a AOV

A produção de AOV's é a melhor medida de eficiência geral considerando o objectivos que norteiam o trabalho apresentado. Deste modo apresenta-se a conversão de CQO a AOV's em % ao longo do período de análise para o Ensaio 2 (Figura 42).

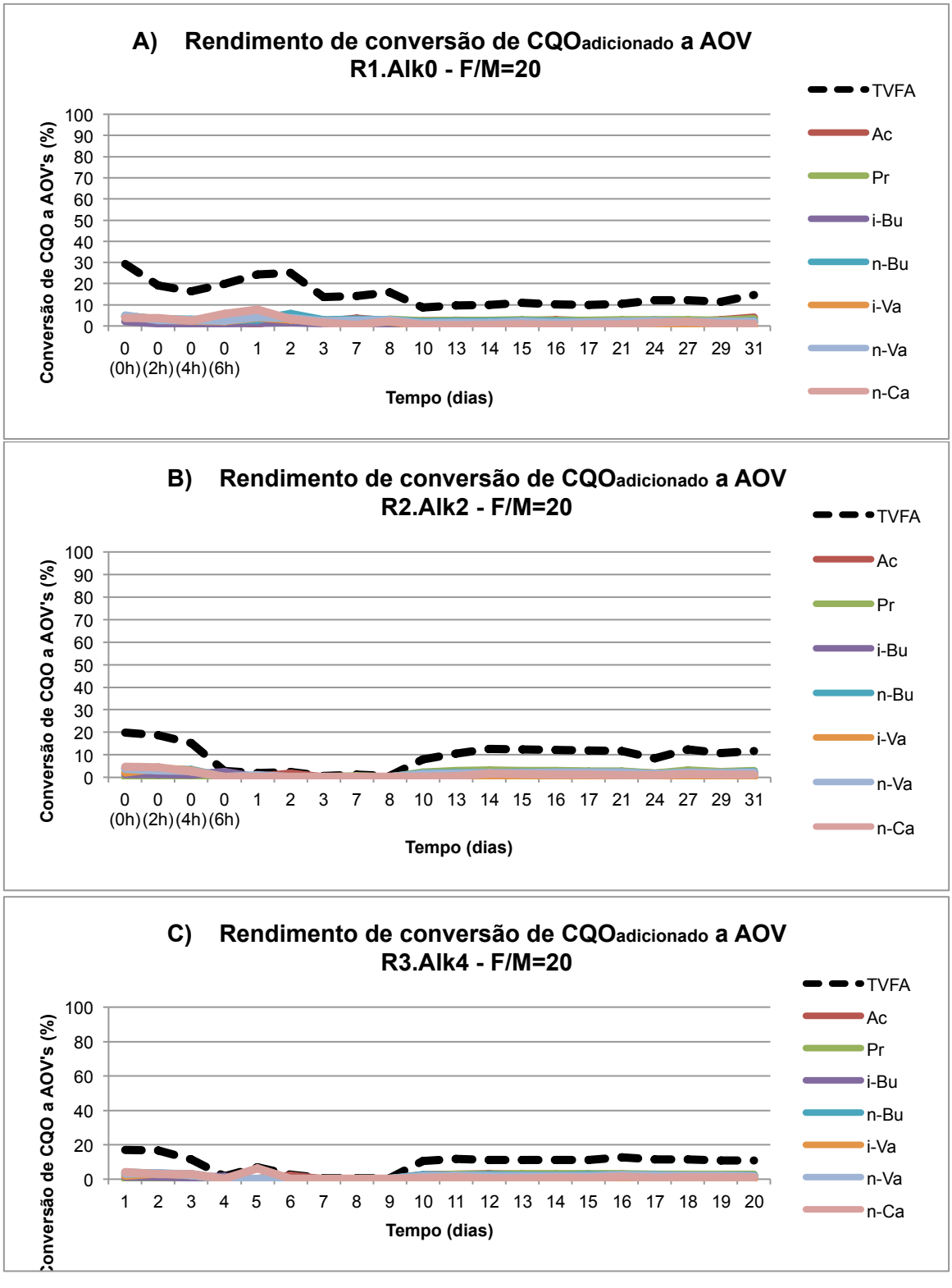
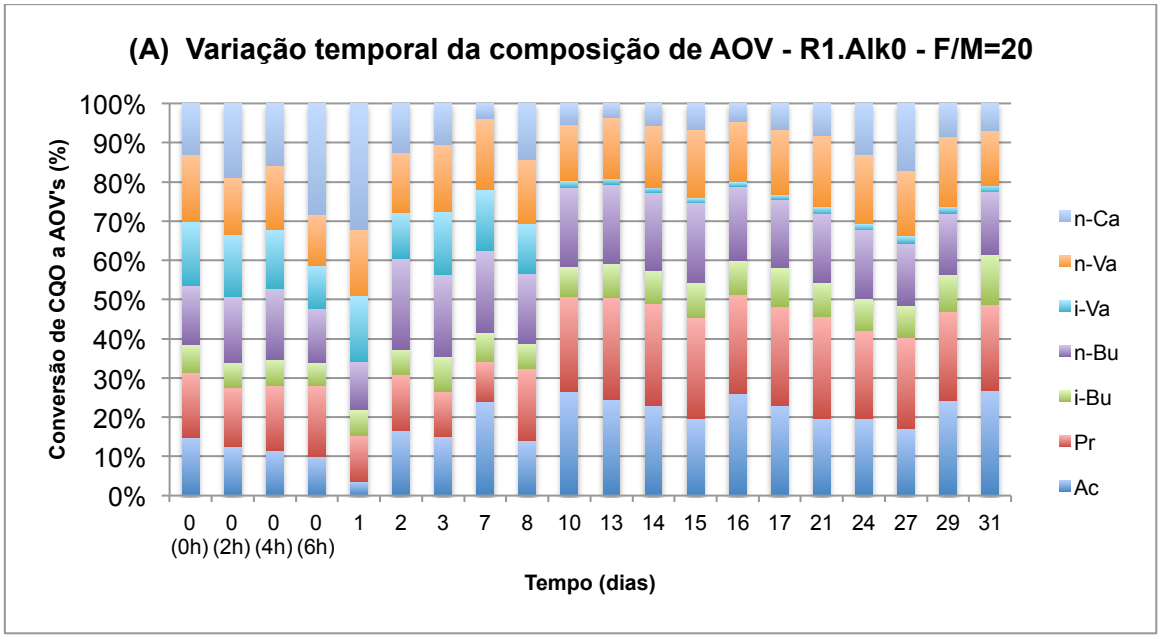


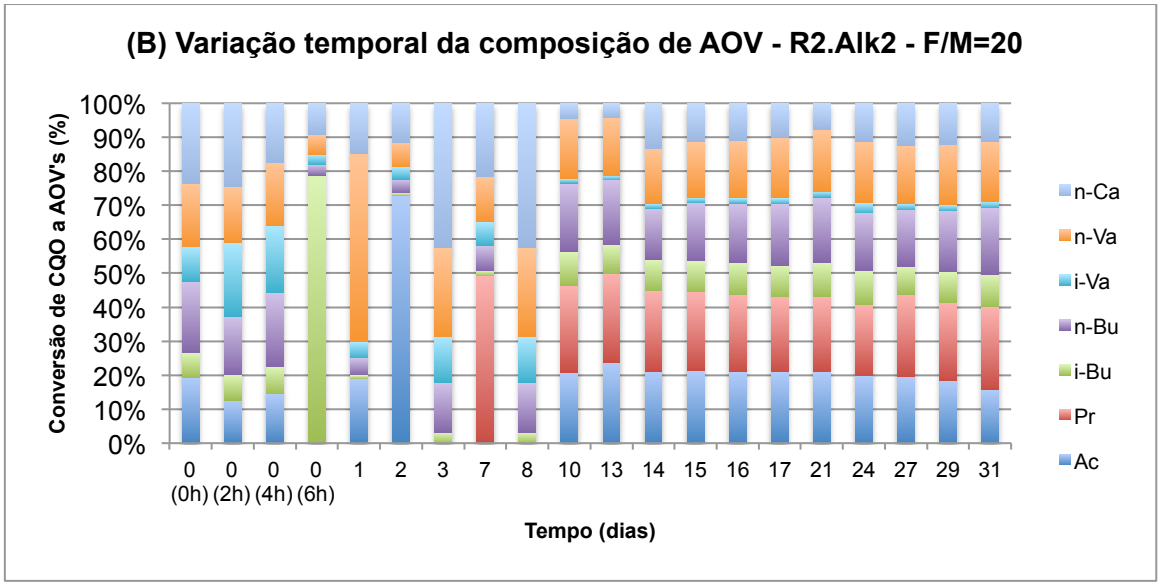
Figura 42 - Rendimento da conversão de CQO adicionado a AOV's em % para o período experimental referente ao 2º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalindade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$

Pela análise dos gráficos da figura (Figura 42) observa-se que a conversão de CQO adicionado a TAOV's ao longo dos ensaios é baixa em todos os reatores não ultrapassando nunca os 30%. A maior percentagem de conversão de CQO a TAOV's verifica-se para o reator 1 com alcalindade nula e que aprrsenta uma maior regularidade face aos resultados obtidos para o reator 2 e 3 com adição de alcalinidade.

5.3.7 Composição em termos de % AOV's no Ensaio 2

Apresenta-se para o valor total de AOV's produzidos a composição em termos de %, respectivamente para o reator R1, R2 e R3 do ensaio 3 (Figura 43):





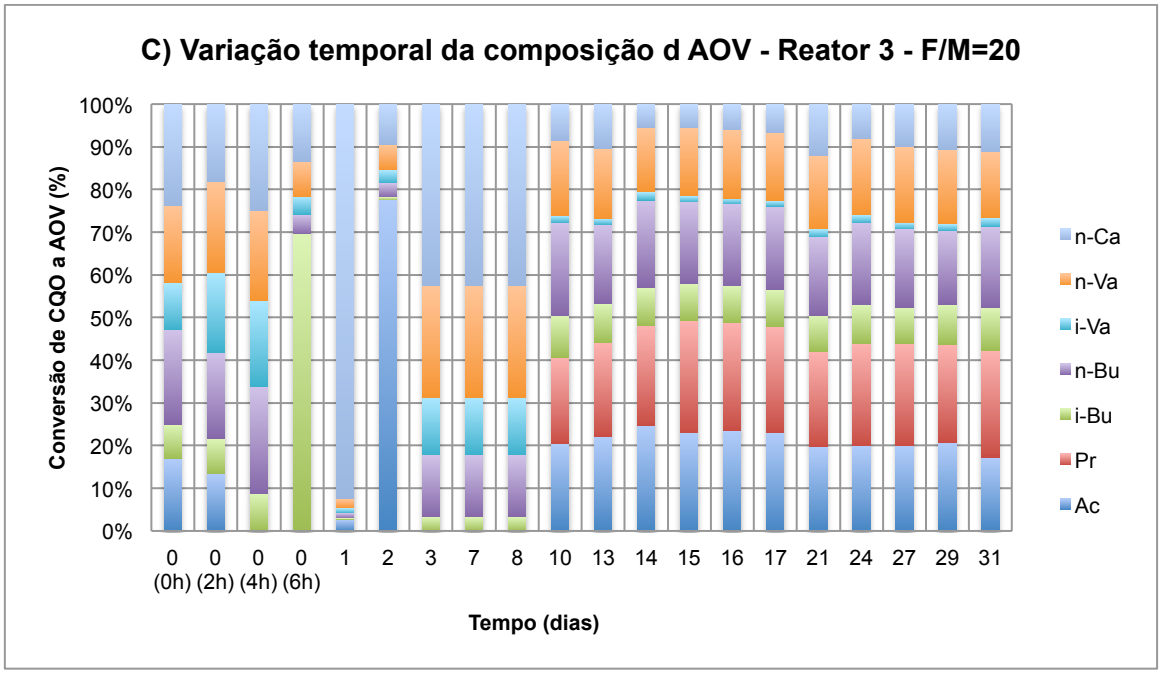


Figura 43 - Variação temporal da composição de AOV em % para o período experimental referente ao 2º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L.

As maiores percentagens em termos de composição de AOV's são referentes aos ácidos n-caproico, e i-butírico, os quais apresentam os maiores valores: ácido n-caproico para o reator R1 e para o reator R3, e i-butírico.

Os picos de percentagem de conversão pertencem respectivamente ao ácido n-caproico 32,09% para o reator R1 ao ácido i-butírico 78,84% para o reator R2, e para o reator R3 com 92,42%. Para o reator R2 e R3 a composição de AOV's verifica-se como similar e para o reator R1 uma maior regularidade em termos de conversão.

A maior percentagem verificada não ultrapassa os 40 % á exceção de alguns valores pontuais como os mencionados, sendo mais constante para o reator R1. Uma vez que as maiores % se verificam nos reatores com adição de alcalinidade. No entanto é também nos reatores com adição de alcalinidade que se verificam alguns pontos de % nula para alguns ácidos.

5.3.8 Resumo dos resultados experimentais de AOV's – Ensaio 2

De forma a expor os resultados relativos ao 2º ensaio de uma forma mais concisa, apresenta-se a tabela seguinte (Tabela 24) com os principais resultados relativos á produção de AOV's para os três reatores operados durante este ensaio á temperatura mesofílica e razão F/M=20.

Tabela 24 - Quadro resumo dos resultados obtidos no 2º ensaio relativamente á produção de AOV's.

	Máximo TAOV's (mgAc.Ac/L)	Máximo Ac (mgAc.Ac/L)	máx AOV's em TAOV's (%)	Conversão TAOV's (%)
R1 Alk 0	11781 (0h)	2741 (ác. I-butirico)	32,09 (ác. n-capróico)	29,3 (0h)
R2 Alk 2	5773 (0h)	1452 (ác. n-capróico)	78,84 (ác. I-butirico)	19,9 (0h)
R3 Alk 4	5620 (0h)	2238 (ác. n-capróico)	92,42 (ác. n-caproico)	17,0 (0h)

Pela análise dos resultados expostos anteriormente nas Figuras 35, 36 e 37 relativos á produção de AOV's do ensaio com F/M=20 e diferentes alcalinidades aplicadas (R1. Alk0, R2. Alk 2 e R3. Alk4) é possível constatar a presença de todos os AOV´s á excepção do propiónico e acético para a primeira semana de operação dos reatores 2 e 3. A variação da produção de AOV's ao longo do tempo para o reator 2 e 3 apresentam-se como bastante similares entre si. Constata-se também que predominantemente temos a presença do ácido propiónico, acético, n-butírico e n-caproico em todos os reatores. Qualitativamente como já referido por Demirel e Yenigün (2006) embora com uma maior presença do ácido n-capróico neste ensaio.

A concentração total de produção de AOV's é máxima no reator R1, com 11781 mg ácido acético/L, valor verificado logo na primeira medição do ensaio (0 horas). É também para este reator que se verifica a maior produção de ácido, neste caso ácido i-butirico, com 2741 mg ácido acético/L. Para os outros reatores os valores detectados para as diferentes alcalinidades impostas não se encontram muito desfasados entre si.

Segundo Arroja et al. (2012) a alcalinidade é um dos factores que influencia mais claramente a concentração máxima atingível de AOV's (além da carga orgânica), sendo que este máximo é proporcional ao aumento destas variáveis enunciadas. Para este ensaio (ensaio2) tal perfil não se verificou totalmente, sendo que a produção de AOV's foi máxima para o reator R1 (Alk = 0).

De forma geral, verifica-se pela análise das Figuras 39, 40 e 41 respeitantes á análise dos parâmetros CQOs, TAOV's e pH que a produção de AOV's reduz o valor de pH, verificando-se para os maiores picos de produção de AOV's a descida deste. O perfil de CQOs de forma geral acompanha o perfil de TAOV's. Verifica-se também elevados valores de TAOV's, superiores aos de CQOs aquando a medição de arranque de ensaio, valores associados ao próprio substrato.

As maiores % em termos de composição de AOV's (Figuras 43) são referentes aos ácidos n-caproico, e i-butírico, os quais apresentam os maiores valores respectivamente: ácido n-caproico % 32,09 % para o reator R1 e 92,42% para o reator R3, e i-butírico 78,84%. A % de composição

de AOV's não supera os 40 % á exceção de alguns valores pontuais como os mencionados, sendo mais constante para o reator R1. No entanto é também nos reatores com adição de alcalinidade que se verificam alguns pontos de %nula

A maior % de conversão TAOV's verifica-se no reator sem adição de alcalinidade, o que entra em contrariedade com as conclusões dos resultados anteriores e com os resultados de Arroja et al. (2012) sobre o mesmo substrato em estudo. De salientar a pouca fiabilidade atribuída a este ensaio, uma vez que o aparelho de medição de AOV's não estava em perfeito funcionamento. Esta constatação é reforçada pelos resultados das Figuras 39, 40 e 41 em que TAOV's é superior ao CQO solúvel o que não é possível.

5.4 ENSAIO 3

Para o presente ensaio, são apresentados os resultados do processo de acidificação do conjunto lamas DAF/biomassa para um período temporal de monitorização de 18 dias aquando a sua finalização.

No referido ensaio foi adoptado um F/M de 14 para a sua realização tendo a alcalinidade valores de 0, 2 e 4 g $CaCO_3$ para os três reatores utilizados, seguindo a matriz experimental adoptada – Tabela 25. Para uma melhor exposição de resultados na fase conclusiva, a cada reator associou-se a identificação Ra. Alkb. em que "a" corresponde ao número de reator e "b" ao valor de alcalinidade (em g $CaCO_3$/L) utilizada.

Tabela 25 - Matriz experimental adoptada com a designação dos reatores para o Ensaio 3

		Alcalinidade (g $CaCO_3$/L)		
		0	2	4
F/M	14	R1. Alk 0	R2. Alk 2	R3. Alk 4

5.4.1 Caracterização do substrato e biomassa utilizada - parâmetros operacionais

Para a execução do ensaio foi realizada uma caracterização das lamas DAF e da biomassa utilizadas no mesmo, sendo os resultados obtidos apresentados na tabela seguinte – Tabela 26.

Tabela 26 - Caracterização inicial das lamas DAF e biomassa utilizada no ensaio 3

	Lamas DAF			**Lamas biológicas**	
	CODt (g COD/L)	**CODs** (gCOD/L)	**pH**	**SST (g/L)**	**SSV (g/L)**
Ensaio **1**	95,43	27,64	5,86	20,02	14,40

A cada um dos três reator foram adicionadas quantidades previamente determinadas que compreendem respectivamente os valores apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 - Caracterização do conteudo dos reatores utilizados no ensaio 3

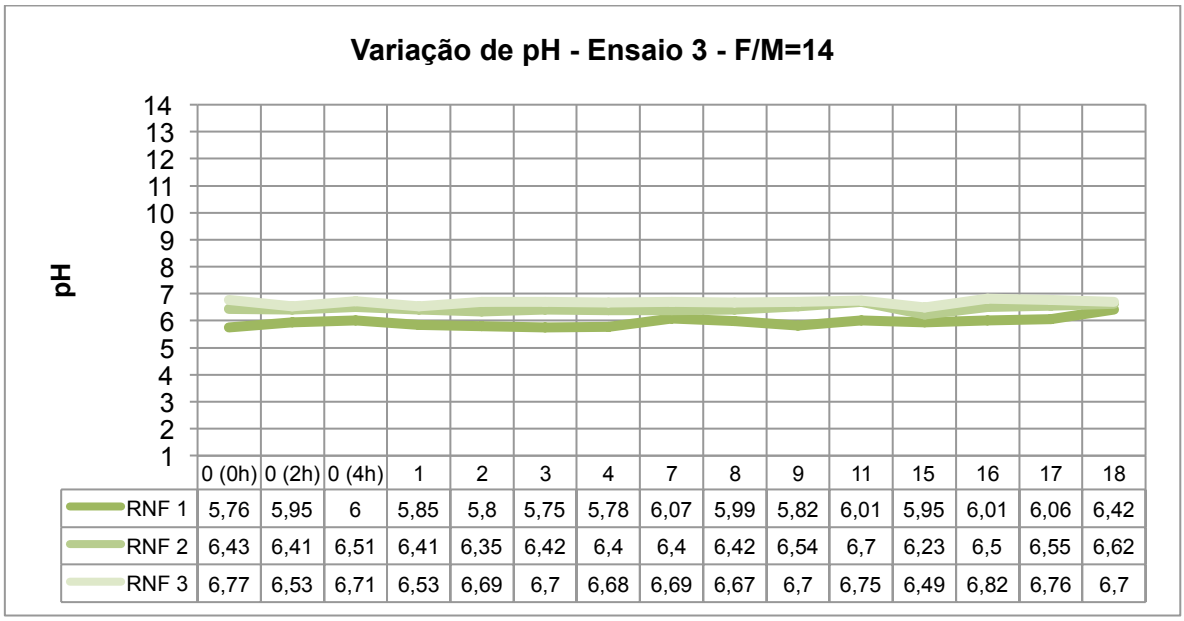
	F/M	Lamas DAF	Lamas biológicas	Solução de alcalinidade	nutrientes		H2O destilada
					I	II	
	-	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)		(mL)
R1. Alk 0	14	1496,33	708,33	0	5,1	10,2	2880,03
R2. Alk 2	14	1496,33	708,33	171,36	5,1	10,2	2708,67
R3. Alk 4	14	1496,33	708,33	342,72	5,1	10,2	2537,31

De igual modo, os valores apresentados são relativos a cálculos para um volume total de cada reator de 5,1 L tal como afirmado anteriormente. Aquando a selagem é realizado o mesmo procedimento com azoto gasoso de modo a promover a anaerobiose nos reatores.

5.4.2 Perfis temporais das variáveis de monotorização do sistema

5.4.2.1 Evolução do pH

Nas amostragens realizadas durante a monitorização do ensaio 2 o pH foi determinado. A sua evolução temporal ao longo do ensaio encontra-se apresentada na figura seguinte (Figura 44):



	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	8	9	11	15	16	17	18
RNF 1	5,76	5,95	6	5,85	5,8	5,75	5,78	6,07	5,99	5,82	6,01	5,95	6,01	6,06	6,42
RNF 2	6,43	6,41	6,51	6,41	6,35	6,42	6,4	6,4	6,42	6,54	6,7	6,23	6,5	6,55	6,62
RNF 3	6,77	6,53	6,71	6,53	6,69	6,7	6,68	6,69	6,67	6,7	6,75	6,49	6,82	6,76	6,7

Figura 44 - Evolução temporal do valor de pH para os reatores do Ensaio 3 (F/M=14).

De igual modo, neste ensaio a cada amostragem realizada, o pH foi contabilizado. Não foi realizada nenhuma correção do mesmo no decorrer da monitorização do ensaio.

Pela análise da Figura 44 verifica-se que a variação de pH relativa aos reatores se encontra fora do intervalo referido por Foresti (1993) - (6.8 - 7.5).

Verifica-se que os valores de pH são mais elevados para o reator com maior alcalinidade, ou seja, com uma maior adição de $CaCO_3$. Esta constatação é coerente uma vez que estes dois parâmetros se encontram intrinsecamente relacionados.

Os valores de pH obtidos, de forma geral para os três reatores, mantêm-se constantes, com variações até um máximo de pH 0,5, o já verificado para os anteriores ensaios.

5.4.2.2 Alcalinidade

Os valores correspondentes á determinação do valor de alcalinidade correspondente a cada reator face ao valor imposto inicialmente são apresentados na tabela seguinte – Tabela 28.

Tabela 28 - Valores de alcalinidade obtidos para os reatores referentes ao Ensaio 3

	Alcalinidade (g $CaCO_3$ /L)		
	R**1.** Alk **0**	R**2.** Alk **2**	R**3**. Alk**4**
Objetivo	0	1,28	1,60
Inicio	2	1,98	2,37
Final	4	3,85	4,55

Tal como verificado no ensaio anterior, os valores de alcalinidade determinados inicialmente não correspondem aos que se impõem. A discrepância é mais notória para o reator R1. Alk0 em que se assume que a alcalinidade será nula e tal não se verifica. Tal fato deve-se á anterior já referida, relação deste parâmetro com o pH.

Outro fator constante nos valores apresentados é alcalinidade final que apresenta sempre um incremento relativamente ao valor determinado inicialmente.

5.4.2.3 CQO total

Na figura seguinte são apresentados os valores médios de CQO total dos três reatores para o ensaio 2:

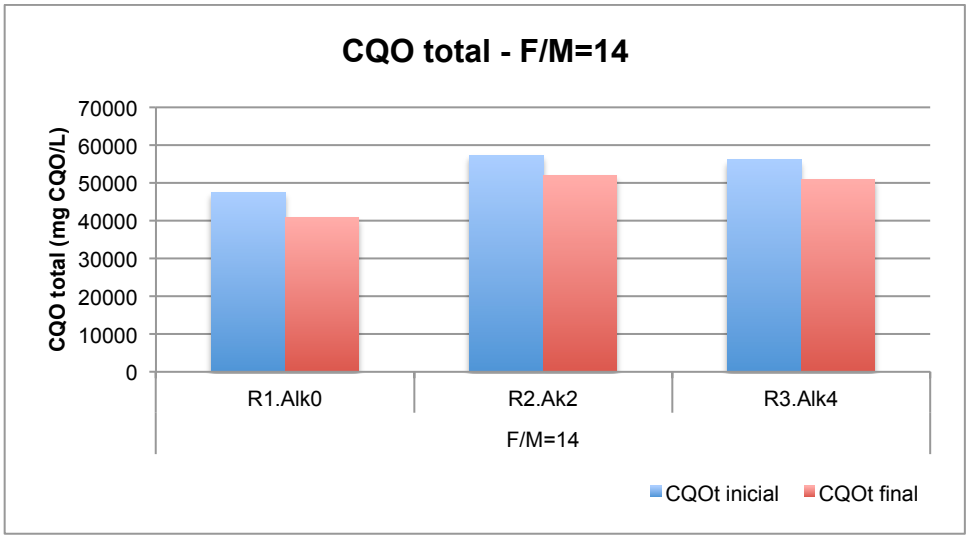


Figura 45- Valores de CQO total no inicio e no fim do ensaio 3.

Verifica-se pela análise da figura 45 que o CQO total inicial dos reatores apresentava valores entre 57290 mg/L e 47400 mg/L . No final do ensaio os valores de CQO total obtidos são mais baixos, com valores entre 51950mg/L e 40930mg/L.

É possível concluir que o substrato é biodegradável, sendo esta biodegradabilidade verificada após 18 dias com valores de 13% para R1.Alk0, 9% para R2. Alk2 e 9% e R3.Alk4.

5.4.3 Produção e composição de biogás na digestão anaeróbia do ensaio 3

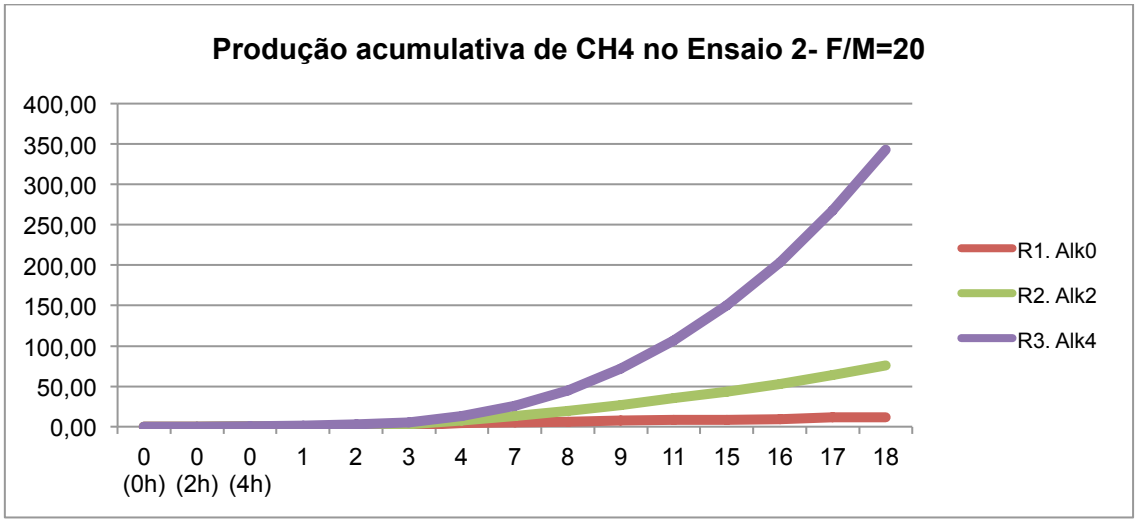


Figura 46 - Produção acumulativa de metano para os reatores R1 com alcalinidade nula, R2 com alcalinidade 2 e R3 com alcalinidade 4 (em g $CaCO_3$/L) para uma razão de F/M=20 e T=37ºC.

Pela análise do gráfico apresentado na Figura 46, verifica-se que a produção de metano foi bastante maior no reator R3.Alk3 no entanto o perfil linear de produção de metano verificado não era esperado.

Para ambos os reatores, a presença de metano verifica-se a partir do 3º dia. No R2. Alk2 a presença de metano só se verifica a partir do 9ºdia, fase que se considera como adaptativa dos microrganismos ao substrato, ou seja, uma fase se adaptação metabólica. Para o R3. Ak4 a produção de metano verifica- se logo no 1º dia. Verifica-se uma produção de metano para os reatores R1, R2 e R3 de respectivamente; 12mL, 76mL e 343mL.

5.4.4 Evolução Temporal dos Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV's)

Para o presente ensaio não se dispõe de análise total de AOV's dada a indisponibilidade da cromatógrafo gasoso que permitia a sua análise. Deste modo, apenas será possível obter as conclusões relativas a alguns dados para este 3 º ensaio. São assim apresentados para o Ensaio

3 a análise da concentração de AOV's em mg de ácido acético /L para os reatores em análise (R1. Alk0, R2. Alk2 e R3. Alk4) em função do período temporal em que foram operados.

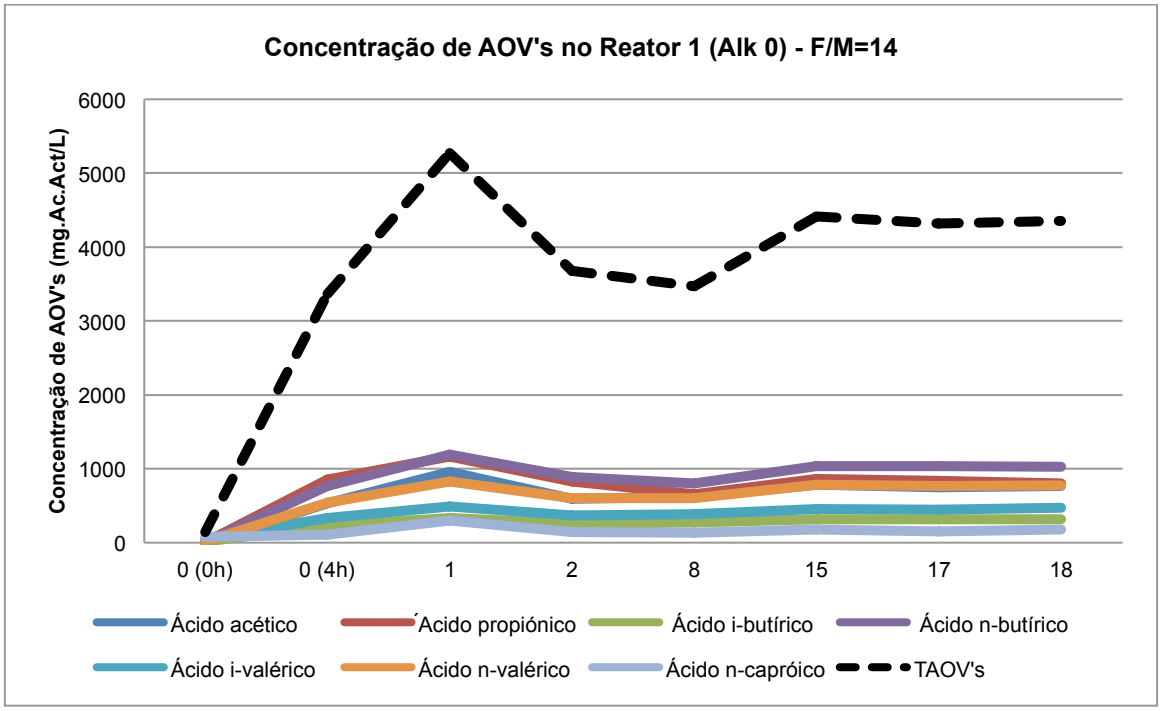


Figura 47 Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R1 para uma alcalinidade nula e F/M=14 a T=37ºC.

Pelo gráfico apresentado na Figura 47 para o reator R1 com alcalinidade nula verifica-se a presença dos sete AOV's, sendo que o ácido n-butírico e propiónico se apresentam como os AOV's com maior concentração (em mg Ac.Act/L). O perfil de concentração de AOV's é crescente até ao 1º dia , verificando-se para este mesmo dia a maior concentração para todos os AOV's analisados.

Como ácidos predominantes em termos de concentrações temos assim, respectivamente o ácido n-butírico, o propiónico e o acético com 1118, 1164 e 959 mg de ácido acético/L. Ao nível da maior concentração total de AOV's produzidos esta foi detectada no 1º dia , com 5270 mg de ácido acético/L, coincidindo com o máximo de produção de todos os ácidos.

Verifica-se uma diminuição acentuada na concentração de AOV's para a maior parte dos ácidos analisados a partir do 1º dia, sendo o mínimo atingido de TAOV's no 8º dia com uma concentração total de AOV's produzidos de 621 mg de ácido acético/L.

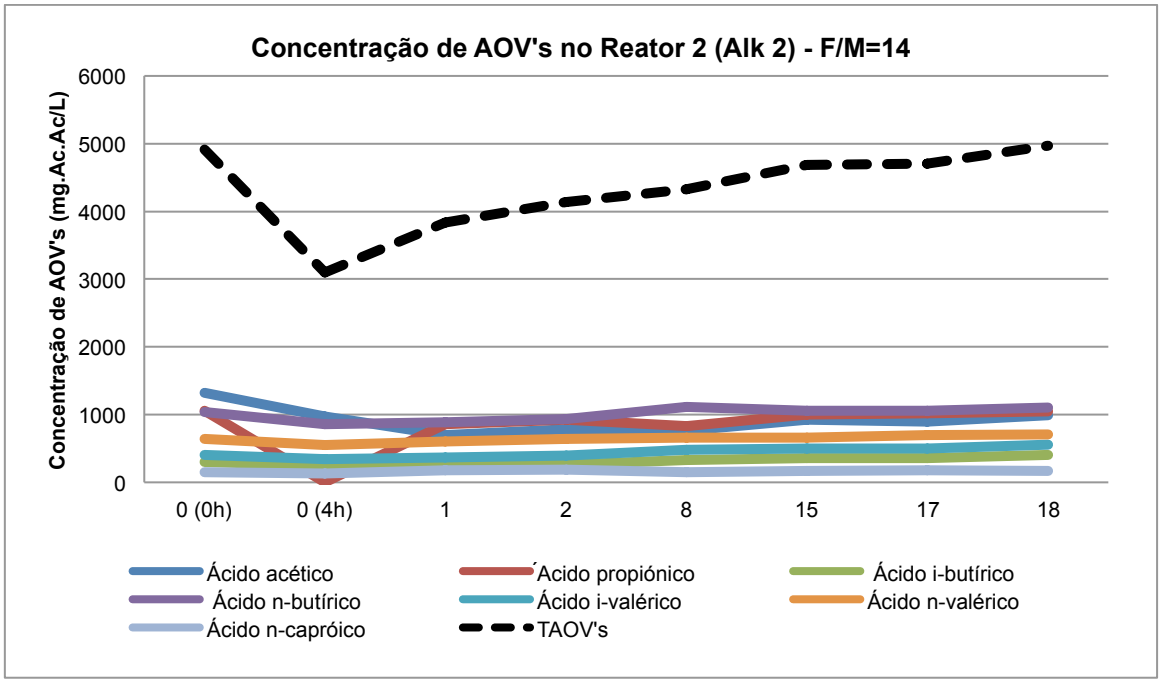


Figura 48 - Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R2 para uma alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L e F/M=14 a T=37ºC.

Na análise do gráfico da Figura 48 respeitante á variação temporal da concentração de AOV's no para o reator R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L verifica-se á semelhança do reator R1 a presença de todos os AOV's durante a monitorização do ensaio. O mínimo de produção total de AOV's verifica-se nas primeiras horas de monitorização (4h) com 3097 mg de ácido acético/L.

Predominantemente temos como ácidos com maior concentração o ácido acético, o n-butírico e o propiónico respectivamente com concentrações máximas de 1321 (0h), 1111 (8ºdia) e 1051 (18ºdia). O ácido propiónico, no entanto apresenta ás 4h uma concentração praticamente nula.

Por sua vez , o ácido com menor produção ao longo do ensaio constitui o ácido n-capróico, sendo que a sua produção nunca ultrapassa as 200 mg de ácido acético/L produzido.Os ácidos com menos representatividade em termos de produção, apresentam valores em termos de concentração, praticamente constantes ao longo do ensaio.

A concentração total de AOV's produzidos atingiu o seu máximo de 4971 mg de ácido acético/L no último dia de monitorização e foi mínimo para as 4horas com 3097 mg de ácido acético/L (devido á influência da concentração nula do ácido propiónico verificada).

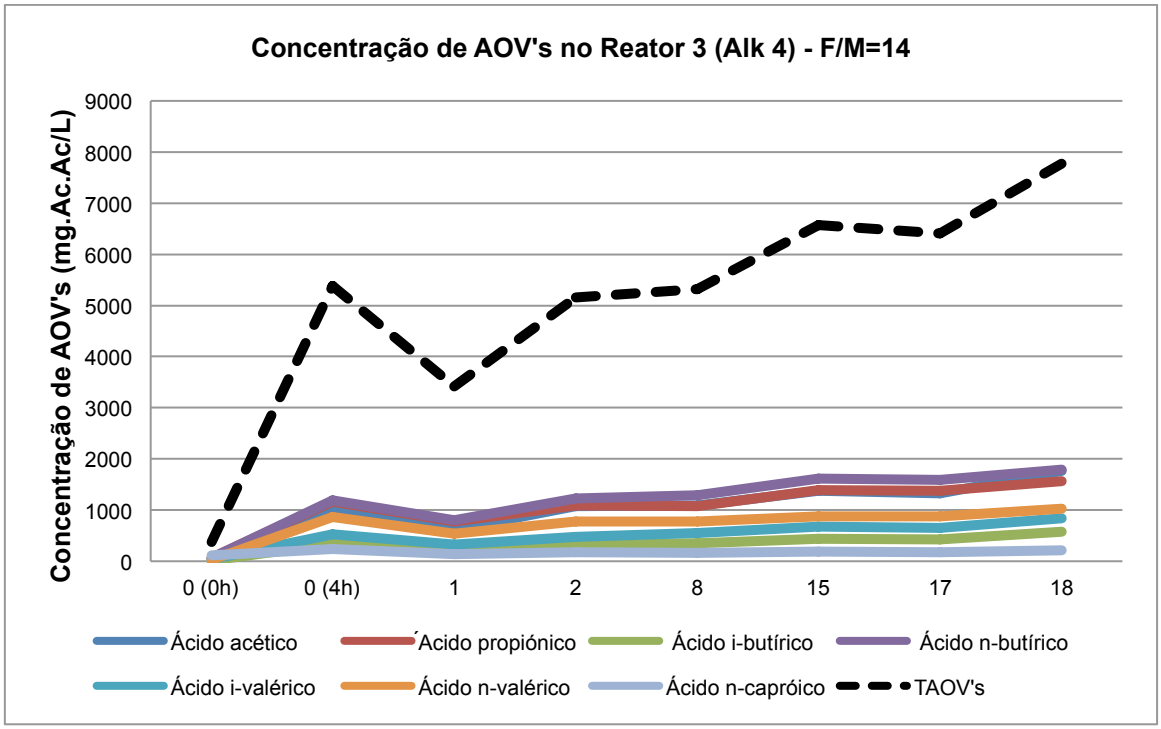


Figura 49- Evolução temporal da concentração de AOV´s no reator R3 para uma alcalinidade de 4 $CaCO_3$/L e F/M=14 a T=37ºC

Á semelhança do que se verificou para o R1 e R2 deste ensaio, detecta-se a totalidade dos ácidos analisados como presentes ao longo de todo o ensaio (Figura 49). Também se verifica a predominância em termos de concentração os ácidos n-butírico, propiónico e acético, sendo o perfil destes ácidos em termo de concentração crescente ao longo do tempo até á finalização do ensaio (18ºdia). Todos os ácidos apresentam assim o seu máximo para o 18ºdia, com destaque para o ácido n-butírico, acético e propiónico com respectivamente, 1791,1771 e 1596 mg de ácido acético/L.

A concentração total de AOV's produzidos alcançou o seu máximo de 7778 mg de ácido acético/L no 18º dia, coincidindo com o dia de concentração máxima de todos os AOV's analisados. De salientar que ocorre uma descida acentuada em termos produtivos entre as primeiras 4 horas e o 1º dia.

O ácido com menor representatividade uma vez mais foi o ácido n-capróico sendo que a sua produção não ultrapassa as 250 mg de ácido acético/L produzido. De salientar que, uma vez que a concentração de AOV's neste ensaio pelo facto de ter um perfil crescente verificado até ao último dia de monitorização, deveria ter existido um maior período temporal de análise experimental.

Apresenta-se na Figura 50 a composição de AOV's para os dias de maior produção do ensaio 3:

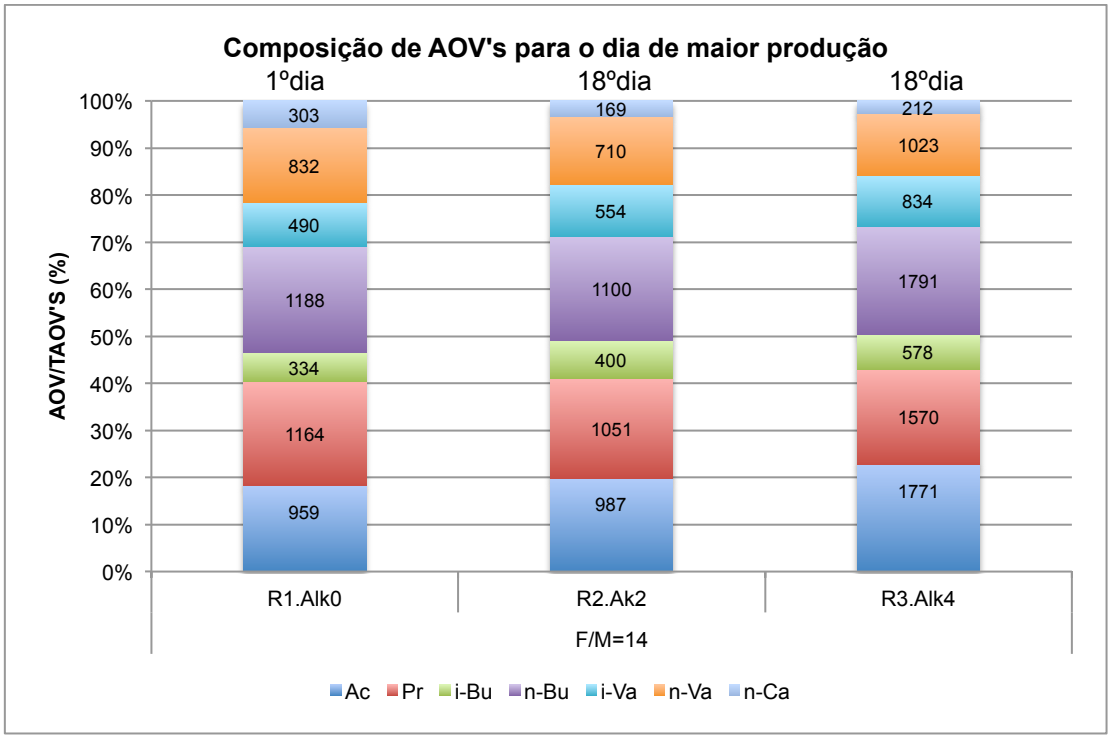


Figura 50 - Composição de AOV's para o dia de maior produção de TAOV's - F/M=14 a T=37ºC

Para o reator 1, os AOV's com maior presença em termos do total de produção são o ácido n-butírico e propiónico respectivamente: 1188 mg e 1164 mg como ácido acético. As respetivas percentagens não ultrapassam os 25%.

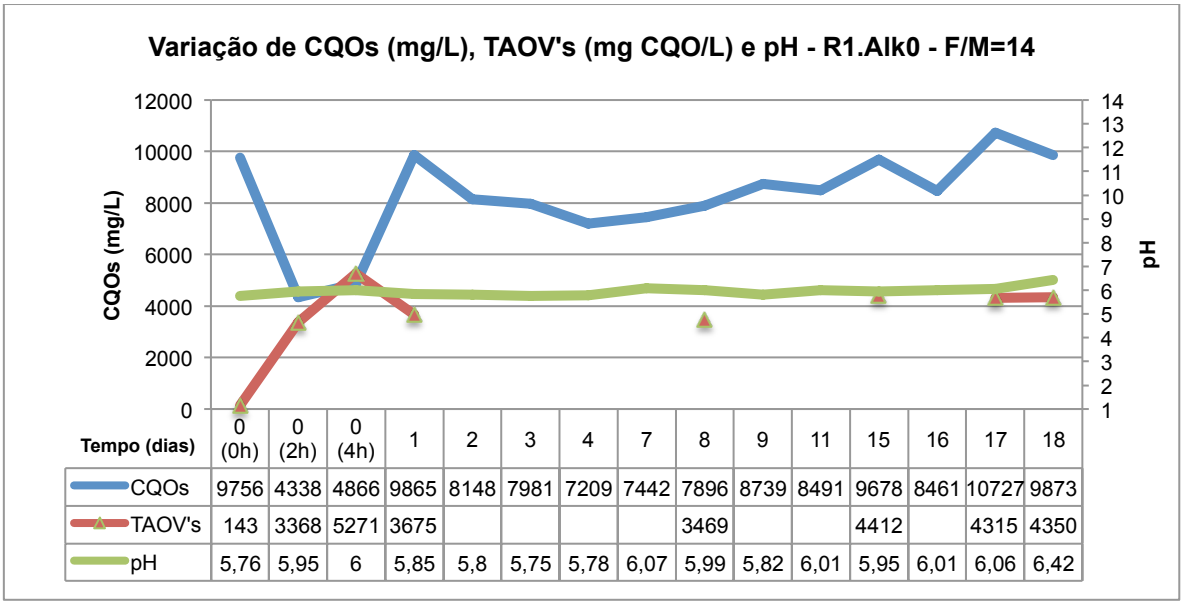
No reator 2, para o dia de maior produção de AOV's, os AOV's com maior presença são também o ácido n-butírico e propiónico respetivamente com 1100 e 1051 mg como ácido acético. Em termos de percentagem temos percentagens de cerca de 20%.

Para o reator 3 os AOV's com maior presença são uma vez mais , ácido n-butírico e propiónico, (1791 e 1771 mg como ácido acético). A percentagem para ambos os ácidos é inferior a 25%.

As percentagens que se pretendiam em termos de ácido propiónico e acético, 30% e 70% não são verificadas, sendo que os AOV's com maior presença são os mesmos para os três reatores, o ácido n-butírico e propiónico. Em termos percentuais, para ambos os reatores, os valores são semelhantes não ultrapassando os 25% face ao TAOV's para cada dia.

5.4.5 Perfil de Carência Química de Oxigénio – CQO (mg/L), produção Total de Ácidos Voláteis – TAOV's (mg CQO/L) e pH.

Apresenta-se para o Ensaio 3 a análise da concentração de CQOs em mg de CQO/L, TAOV's em mg de CQO/L e pH para os reatores em análise (R1. Alk0, R2. Alk2 e R3. Alk4) em função do período temporal em que foram operados (Figura 51, 52 e 53):

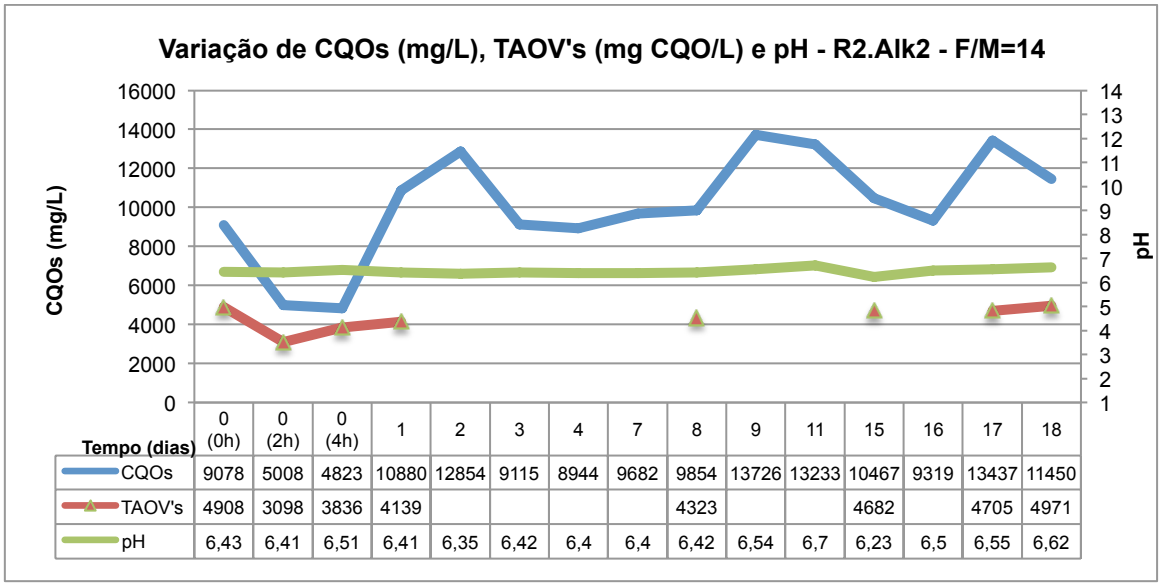


Tempo (dias)	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	8	9	11	15	16	17	18
CQOs	9756	4338	4866	9865	8148	7981	7209	7442	7896	8739	8491	9678	8461	10727	9873
TAOV's	143	3368	5271	3675					3469			4412		4315	4350
pH	5,76	5,95	6	5,85	5,8	5,75	5,78	6,07	5,99	5,82	6,01	5,95	6,01	6,06	6,42

Figura 51 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 3, respeitante ao R3 com alcalinidade nula.

O perfil de produção total de AOV's observado na figura (Figura 51) acompanha como esperado, a variação de CQOs. A concordância que se espera para as 0 horas é verificada nesta análise, (ao contrario dos ensaios anteriores), com um valor de CQOs superior á concentração TAOV's.

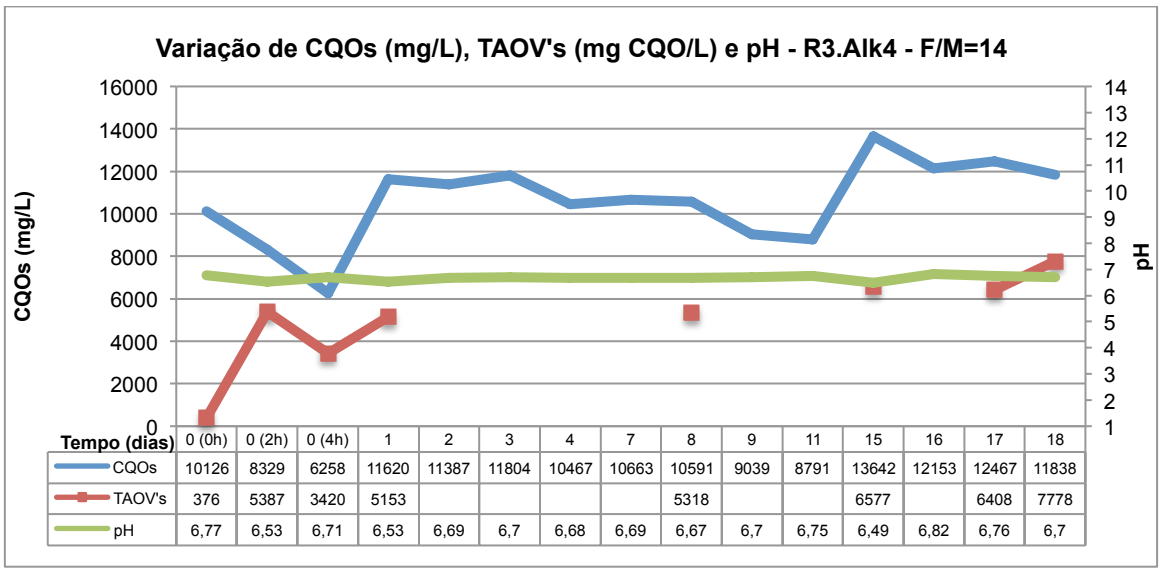
Os picos de maior produção de AOV's são congruentes com descidas de pH, o que se espera numa análise de perfil entre estes dois parâmetros. A descida esperada dos valores de CQOs verifica-se, embora o valor inicial e final sejam praticamente iguais, respectivamente com 9755 mg/L e 9873 mg/L.



Tempo (dias)	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	8	9	11	15	16	17	18
CQOs	9078	5008	4823	10880	12854	9115	8944	9682	9854	13726	13233	10467	9319	13437	11450
TAOV's	4908	3098	3836	4139					4323			4682		4705	4971
pH	6,43	6,41	6,51	6,41	6,35	6,42	6,4	6,4	6,42	6,54	6,7	6,23	6,5	6,55	6,62

Figura 52 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 3, respeitante ao R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L .

Na análise do gráfico da Figura 52 respeitante ao reator R2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L o perfil dinâmico entre CQOs/pH/TAOv's mantem-se como esperado, ou seja, as variações entre CQOs e TAOv's são similares e para descidas de pH verificam-se picos produtivos de AOV's. As variações de pH não são acentuadas, mantendo-se este parâmetro entre os valores de 6,4 e 6,7. Verifica-se também para este reator que o valor de CQOs no inicio do ensaio é superior á concentração TAOV's tal como seria expectável. Verifica-se no entanto um aumento do valor de CQOs inicial face ao final, com valores de 9077 e 11450 mg/L.



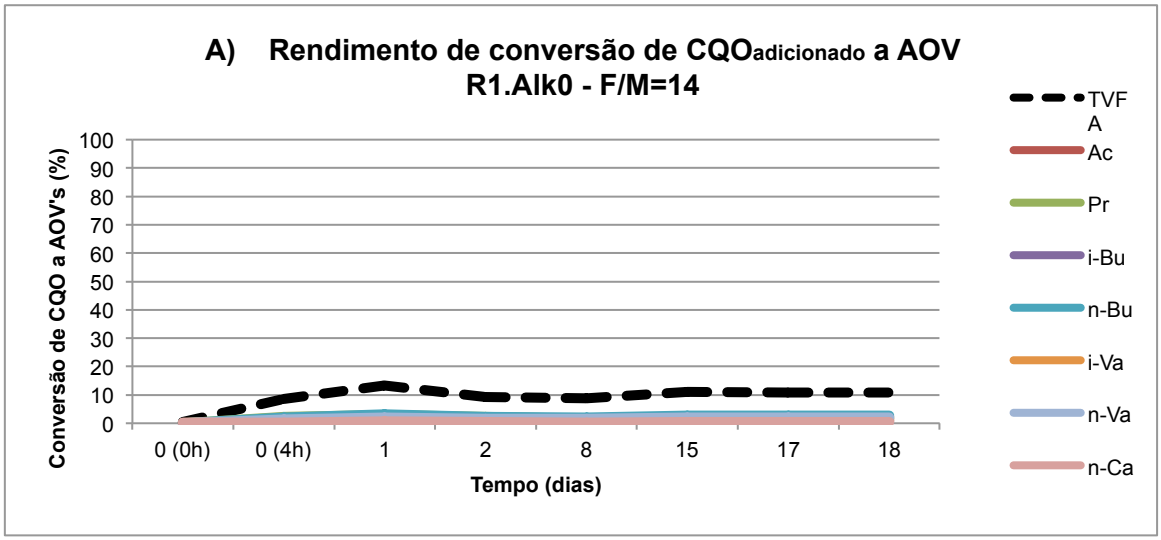
Tempo (dias)	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	8	9	11	15	16	17	18
CQOs	10126	8329	6258	11620	11387	11804	10467	10663	10591	9039	8791	13642	12153	12467	11838
TAOV's	376	5387	3420	5153					5318			6577		6408	7778
pH	6,77	6,53	6,71	6,53	6,69	6,7	6,68	6,69	6,67	6,7	6,75	6,49	6,82	6,76	6,7

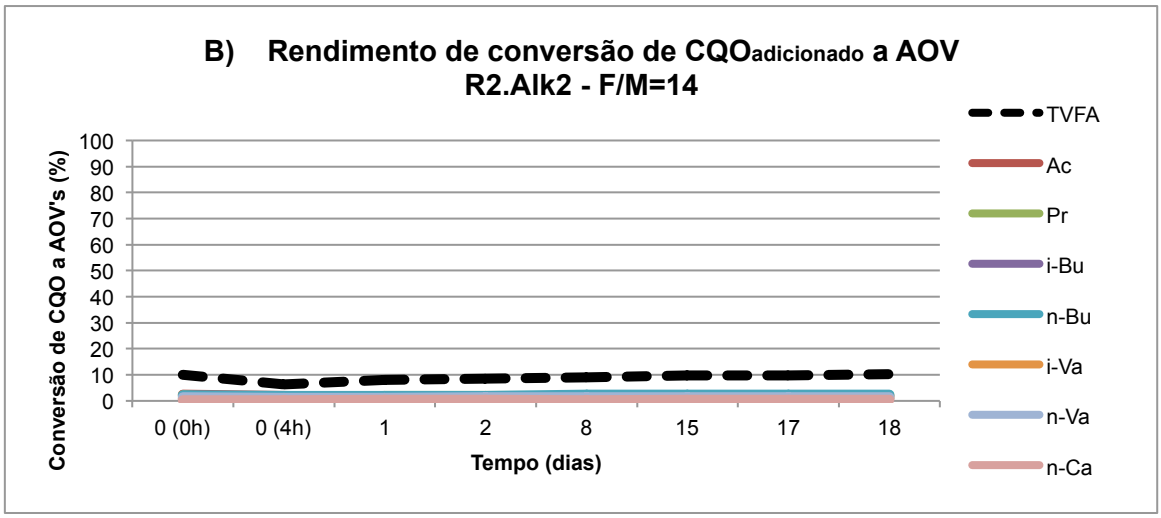
Figura 53 - Variação temporal dos parâmetros CQO solúvel (mg/L), TAOV's (mg CQO/L) e pH para o Ensaio 3, respeitante ao R3 com alcalinidade de 4 g $NaHCO_3$

Na análise obtida para o reator R3 (Figura 53) cuja alcalinidade corresponde a 4 g $CaCO_3$/L, temos variações de produção TAOV's que acompanham as de CQOs com descidas de pH para o aumento dos parâmetros anteriores. O pH não apresenta variações muito bruscas, variando entre 6,5 e 6,8. Verifica-se á semelhança dos resultados para os reatores anteriormente analisados neste ensaio, um valor de CQOs inicial semelhante ao final, com valores de 10125 e 11837 mg/L.

5.4.6 Rendimento de conversão de CQO a AOV

A produção de AOV's é a melhor medida de eficiência geral considerando o objectivos do trabalho apresentado. Deste modo apresenta-se a conversão de CQO a AOV's em % ao longo do período de análise para o Ensaio 3 (Figura 54).





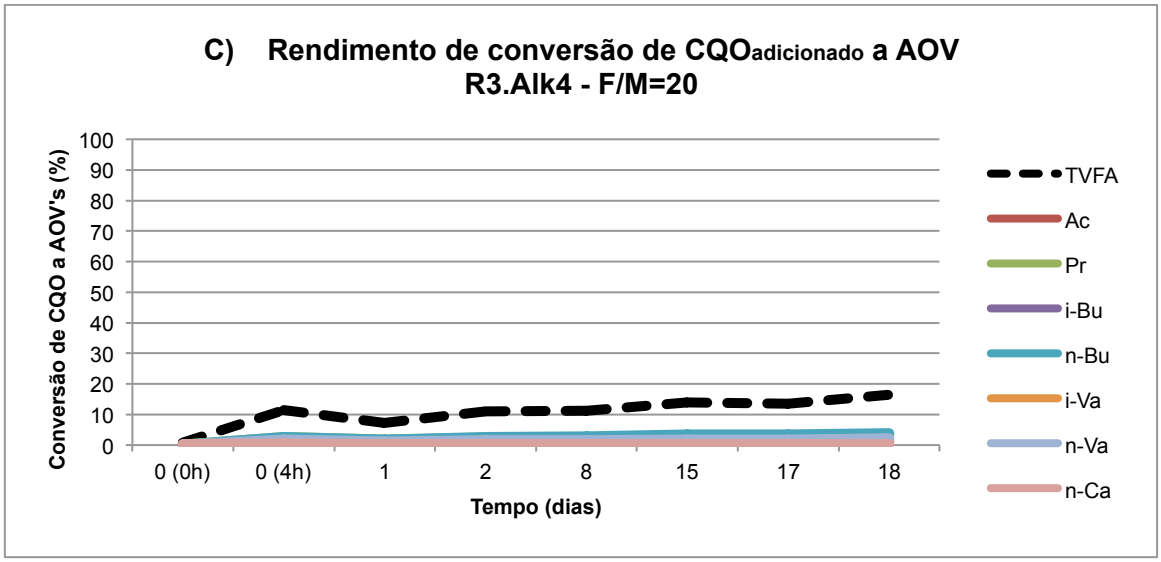


Figura 54 - Rendimento da conversão de CQO adicionado a AOV's em % para o período experimental referente ao 3º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalindade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$

Pela análise dos gráficos da Figura 54 observa-se que a conversão de CQO a AOV's para todos os reatores e para todos os AOV's é baixa não ultrapassando os 20%. A percentagem de conversão é maior para o reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$.

5.4.7 Composição em termos de % AOV's no Ensaio 3

Apresenta-se para o valor total de AOV's produzidos a composição em termos de %, respectivamente para o reator R1, R2 e R3 do ensaio 3 (Figura 55):

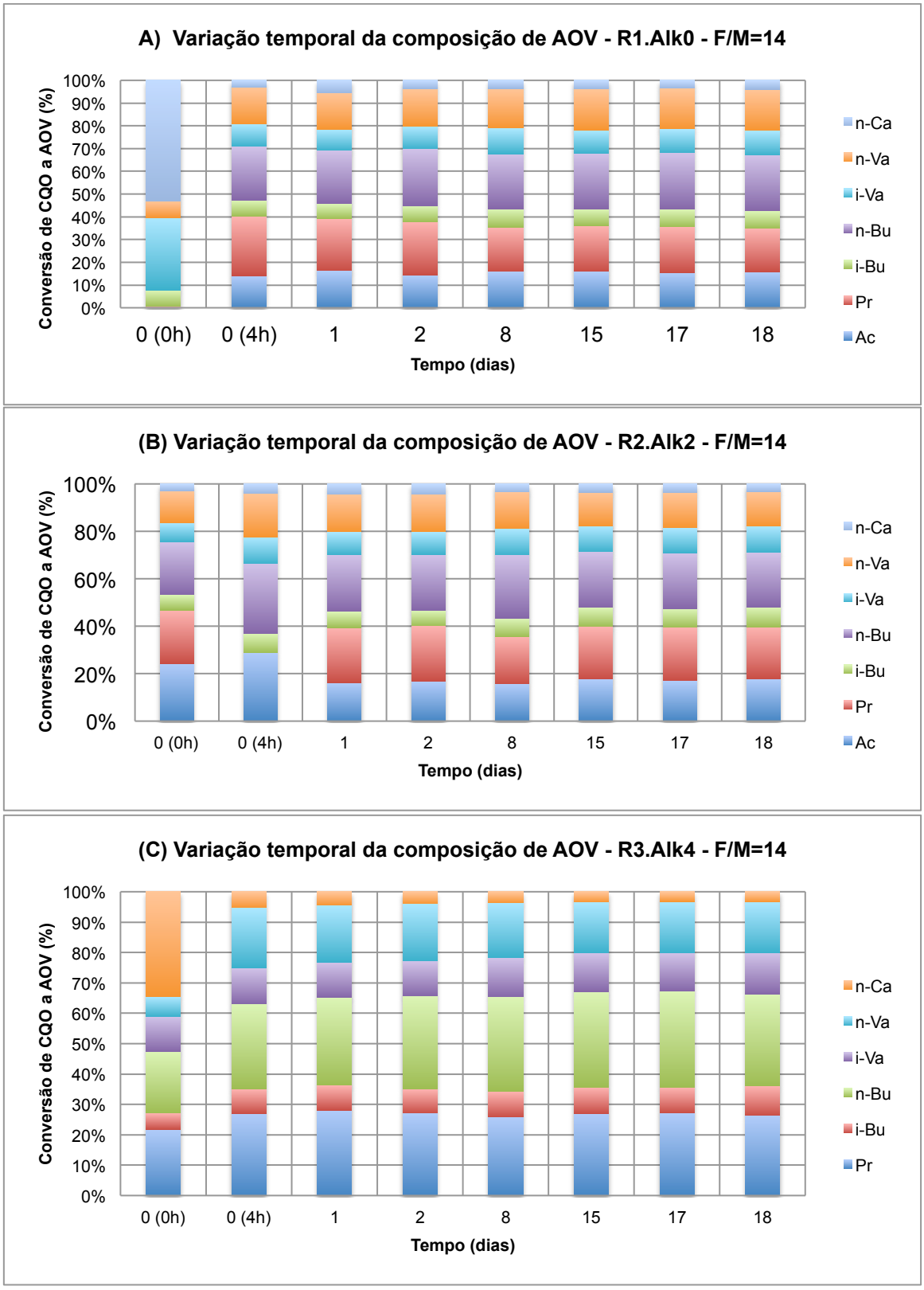


Figura 55 - Variação temporal da composição de AOV em % para o período experimental referente ao 3º Ensaio com: A) Reator 1 de alcalinidade nula; B) Reator 2 com alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L ; C) Reator 3 com alcalinidade de 4 g $CaCO_3$/L .

Em termo de composição, os AOV's com maior % são referentes aos ácidos ácido n-butírico, propiónico e acético, os quais apresentam os maiores valores na globalidade do ensaio. A composição em termos de AOV's é mais variável para as o horas quando se iniciam os ensaios., com uma % de n-caproico de 53% e 30% para o reator R1 e R3. Para todos os AOV's analisados, as % de conversão são praticamente constantes ao longo do tempo para os 3 reatores.

Os picos de % pertencem respectivamente ao ácido n-caproico com 53% para o reator R1 e 29,77% para o reator R3 e o n-butírico com 29, 30% para o reator R2.

A composição em termos de % de AOV's não ultrapassa os 30 % á exceção de valores pontuais que correspondem á % do ácido n-caproico para o início do ensaio nos reatores R1 e R3.

5.4.8 Resumo dos resultados experimentais de AOV's – Ensaio 3

De forma a expor os resultados relativos ao 3º ensaio de uma forma mais concisa, apresenta-se a tabela seguinte (Tabela 29) com os principais resultados relativos á produção de AOV's para os três reatores operados durante este ensaio á temperatura mesofílica e razão F/M=14.

Tabela 29 - Quadro resumo dos resultados obtidos no 3º ensaio relativamente á produção de AOV's.

	Máximo TAOV's (mgAc.Act/L)	Máximo Ac (mgAc.Act/L)	máx AOV's em TAOV's (%)	Conversão TAOV's (%)
R1 Alk 0	5270 (1ºdia)	1118 (ác. n-butírico)	53,00 (ác. n-capróico)	13,2 (1ºdia)
R2 Alk 2	4971 (18ºdia)	1321 (ác. acético)	29,30 (ác. n-butírico)	10,3 (18ºdia)
R3 Alk 4	7778 (18ºdia)	1791 (ác. n-butírico)	29,77 (ác. n-caproico)	16,4 (18ºdia)

Pela análise dos resultados expostos anteriormente nas Figuras 47,48 e 49 relativos á produção de AOV's do ensaio com F/M=14 e diferentes alcalinidades aplicadas (R1. Alk0, R2. Alk 2 e R3. Alk4) é possível constatar a presença de todos os AOV´s que foram analisados no presente trabalho experimental.

Os perfis de variação da produção de AOV's ao longo do tempo para o reator 1 e 3 apresentam-se como bastante similares entre si, com um gradual aumento da maioria das

concentrações de AOV's até ao final do ensaio. Predominantemente temos a presença do ácido n-butírico, propiónico e acético em todos os reatores.

Qualitativamente como já referido, Demirel e Yenigün (2006) obtiveram maioritariamente como produtos de acidogénese, os ácidos acético, propiónico, butírico e valérico para águas residuais de uma industria de lacticínios.

A concentração total de produção de AOV's é máxima no reator R3, com 7778 mg ácido acético/L, valor verificado no último dia experimental do ensaio (18ºdia). É também para este reator que se verifica a maior produção de ácido, neste caso ácido n-butirico, com 1791 mg ácido acético/L.

Segundo Arroja et al. (2012) a alcalinidade é um dos factores que influencia mais claramente a concentração máxima atingível de AOV's (além da carga orgânica), sendo que este máximo é proporcional ao aumento destas variáveis enunciadas. Neste ensaio, (contrariamente ao Ensaio 1 e 2), tal afirmação é coerente com os resultados apresentados. De facto verifica-se uma maior produção de AOV's para o ensaio com maior alcalinidade. No caso do reator sem adição de alcalinidade, o máximo de TAOv's (5270 mg ácido acético/L) não se encontra muito desfazado do obtido para o reator 2 (4971 mg ácido acético/L), mas no entanto a diferença entre os valores mínimos de TAOV's é bastante acentuada, (respectivamente 143 e 3097 mg ácido acético/L)

De forma geral, verifica-se pela análise das figuras respeitantes á análise dos parâmetros CQOs, TAOV's e pH (Figuras 48, 49 e 50) que a produção de AOV's reduz o valor de pH, verificando-se para os maiores picos de produção de AOV's a descida deste. O perfil de CQOs de forma geral acompanha o perfil de TAOV's.

As maiores percentagens em termos de composição de AOV's (Figura 55) são referentes aos ácidos n-caproico, e n-butírico, os quais apresentam os maiores valores respectivamente: ácido n-caproico 53,00 % para o reator R1 e 29,77% para o reator R3, e n-butírico 29,30%. As percentagens não superam o valor de 30% á exceção de alguns valores pontuais como os mencionados, sendo constante para a globalidade dos resultados após as 4horas.

Uma vez que a maior percentagem de conversão se verifica no reatores com adição de alcalinidade, R3.Alk4 com 16,4% considera-se que a sua presença promove uma maior conversão de CQOadicionado a AOV's, o que também Arroja et al. (2012) verificou para o mesmo substrato em estudo.

5.5 INTERCOMPARAÇÃO DE RESULTADOS

Para a discussão dos resultados obtidos é apresentada com maior detalhe a análise referente aos reatores operados experimentalmente.

5.5.1 Produção total de metano nos reatores com e sem alcalinidade, em função do F/M

Tal como verificado anteriormente, pela análise de resultados referentes á produção de metano (ml) esta é bastante baixa, sendo possível inferir que existiram possíveis fugas na instalação experimental (Figura 56).

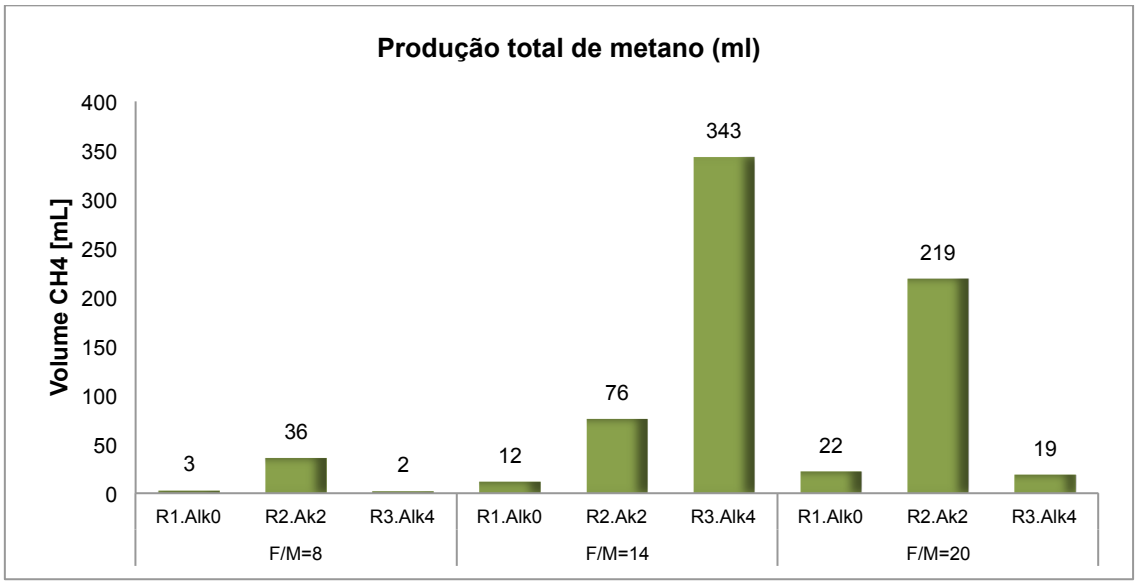


Figura 56- Produção total de metano nos reatores em função da razão F/M para a temperatura de T=37ºC

No gráfico apresentado observa-se, que à temperatura de 37ºC para os reatores com e sem alcalinidade, nas diferentes razões F/M, nomeadamente, 8, 14 e 20, a produção de metano é superior nos reatores operados com a adição de alcalinidade e é máxima para F/M=14 com adição de alcalinidade, 4 g $CaCO_3$/L com 343 mL medidos. Para os reatores operados sem alcalinidade adicionada, a produção de metano é desprezável, não ultrapassando os 22 mL.

Por análise do gráfico, não é possível inferir de forma exata qual o parâmetro que mais influenciou a produção de metano. Os ensaios relativos a F/M=8 e F/M=20 apresentam uma maior produção de metano para alcalinidade de 2 g $CaCO_3$/L sendo que o incremento do parâmetro F/M favorece a produção de metano. O ensaio referente a F/M=14, que temporalmente foi o último a ser realizado, apresenta um incremento na produção de metano diretamente proporcional ao aumento de alcalinidade.

5.5.2 Rendimento da conversão a metano(%)

No gráfico seguinte, são apresentados os valores de conversão de metano ao longo de cada ensaio, para ambos os reatores (Figura 57).

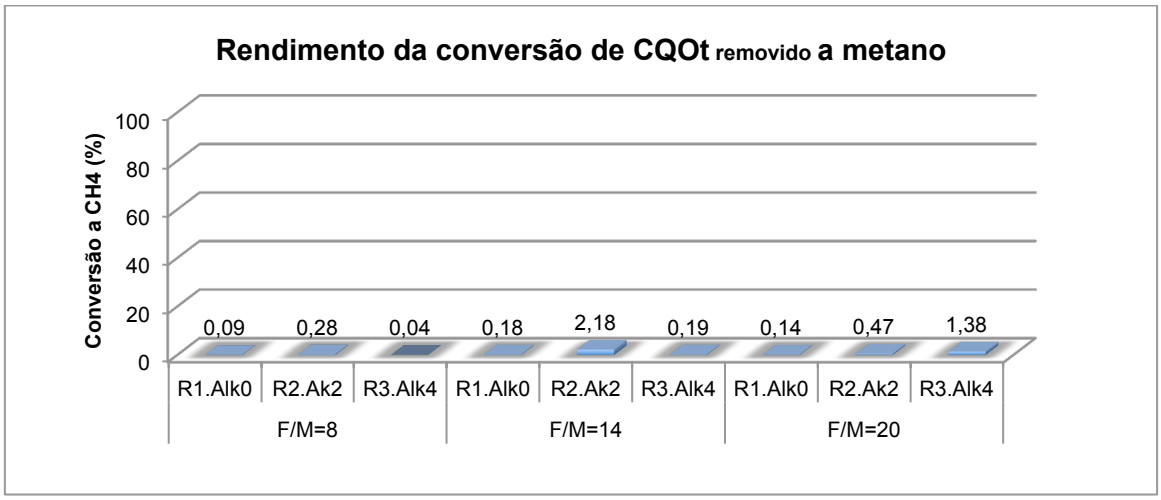


Figura 57 - Conversão de CQO a metano (%) para os reatores em função da razão F/M para a temperatura de T=37ºC.

Pelo gráfico apresentado, observa-se que a conversão de CQO a metano (%) foi bastante baixa, com valores praticamente nulos para a maioria dos reatores. O valor máximo de conversão de CQO a metano (%) verifica-se para o reator operado com uma razão F/M=14 e com maior valor de alcalinidade 4 g $CaCO_3$/L, com 2,18%.

De notar que para a análise apresentada deve-se ter em consideração os tempos de operação associados a cada ensaio, respectivamente, para os reatores associados á aplicação da razão F/M=8, F/M=14 e F/M=20, o tempo de operação foi de 21, 18 e 31 dias (Tabela 11).

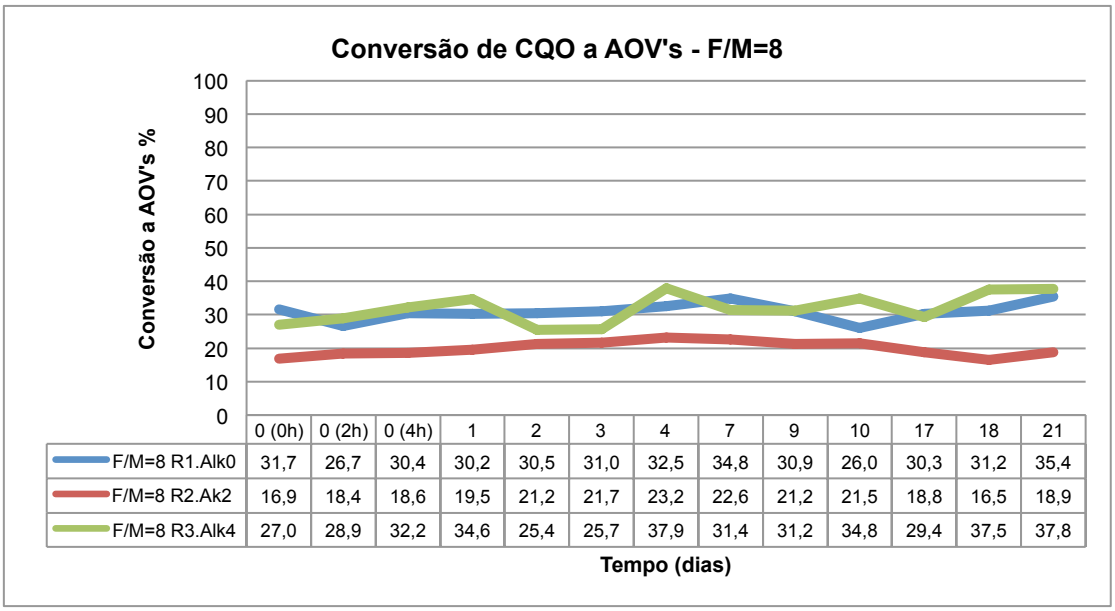
O rendimento de conversão a metano, uma vez que se encontra relacionado com a análise de produção total de metano, e que apresenta da mesma forma baixos valores tem em conta as possíveis fugas na instalação presentes durante a execução laboratorial.

No entanto, á semelhança do que foi constado anteriormente, não é possível inferir que a alcalinidade favorece a produção nem o rendimento da conversão de CQO a metano (%) uma vez que os resultados não apresentam um comportamento linear que permita esta conclusão. De igual modo, este facto já foi anteriormente referido por Isidoro (2009) e Azevedo (2010) em ensaios com este mesmo substrato.

A conversão de CQO adicionado apresenta valores bastante mais baixos, com resultados inferiores a 0,5% pelo que se optou incluir apenas os apresentados na Figura 57.

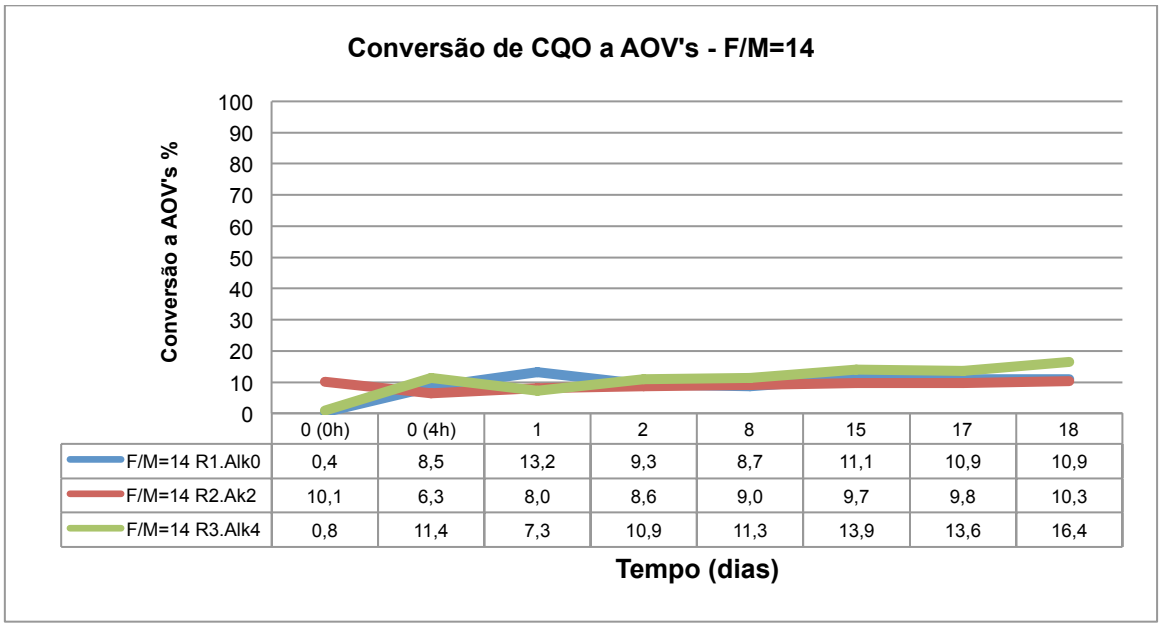
5.5.3 Conversão Instantânea AOV's (%)

Nas figuras seguintes apresentam-se os valores de conversão de CQO a AOVs (%) ao longo dos vários ensaios realizados.



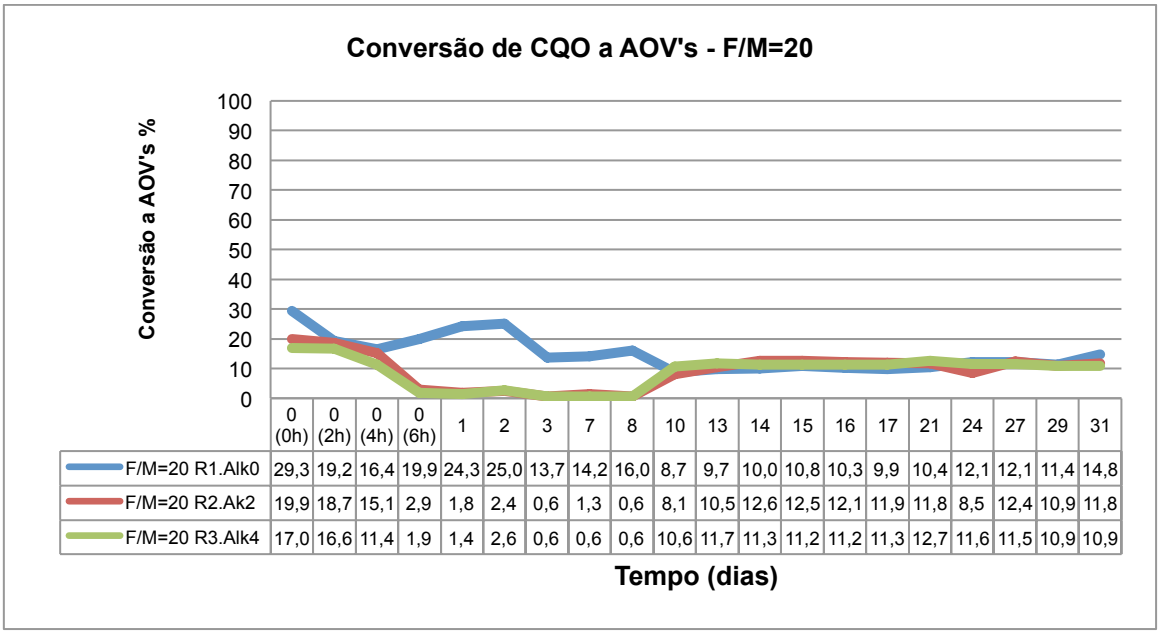
	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	1	2	3	4	7	9	10	17	18	21
F/M=8 R1.Alk0	31,7	26,7	30,4	30,2	30,5	31,0	32,5	34,8	30,9	26,0	30,3	31,2	35,4
F/M=8 R2.Ak2	16,9	18,4	18,6	19,5	21,2	21,7	23,2	22,6	21,2	21,5	18,8	16,5	18,9
F/M=8 R3.Alk4	27,0	28,9	32,2	34,6	25,4	25,7	37,9	31,4	31,2	34,8	29,4	37,5	37,8

Figura 58 - Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reatores com e sem alcalinidade para F/M=8 aplicada para a temperatura de 37 ºC



	0 (0h)	0 (4h)	1	2	8	15	17	18
F/M=14 R1.Alk0	0,4	8,5	13,2	9,3	8,7	11,1	10,9	10,9
F/M=14 R2.Ak2	10,1	6,3	8,0	8,6	9,0	9,7	9,8	10,3
F/M=14 R3.Alk4	0,8	11,4	7,3	10,9	11,3	13,9	13,6	16,4

Figura 59 - Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reatores com e sem alcalinidade para F/M=14 aplicada para a temperatura de 37ºC



	0 (0h)	0 (2h)	0 (4h)	0 (6h)	1	2	3	7	8	10	13	14	15	16	17	21	24	27	29	31
F/M=20 R1.Alk0	29,3	19,2	16,4	19,9	24,3	25,0	13,7	14,2	16,0	8,7	9,7	10,0	10,8	10,3	9,9	10,4	12,1	12,1	11,4	14,8
F/M=20 R2.Ak2	19,9	18,7	15,1	2,9	1,8	2,4	0,6	1,3	0,6	8,1	10,5	12,6	12,5	12,1	11,9	11,8	8,5	12,4	10,9	11,8
F/M=20 R3.Alk4	17,0	16,6	11,4	1,9	1,4	2,6	0,6	0,6	0,6	10,6	11,7	11,3	11,2	11,2	11,3	12,7	11,6	11,5	10,9	10,9

Figura 60- Conversão de CQO a AOVs (%) ao longo de cada ensaio para os reatores com e sem alcalinidade para F/M=20 aplicada para a temperatura de 37ºC

Dos gráficos das figuras 58, 59 e 60 observa-se que a conversão de CQO a AOV's ao longo dos ensaios nunca ultrapassa os 38%. A conversão mais elevada é relativa a F/M=8 (Figura 58), para o reator com maior adição de alcalinidade, com um valor de 37,8%.

O aumento da carga orgânica de F/M=8 para F/M=14 provoca a diminuição da conversão de CQO a AOVs (%) para todos os reactores, verificando-se uma conversão média de aproximadamente 25% para F/M=8, que se apresenta praticamente constante ao longo do ensaio e uma conversão nunca superior a 16,4% para F/M=14.

O ensaio relativo á maior carga aplicada, F/M=20 é o que apresenta a maior variação em termos de valores de conversão de CQO a AOV's, com um valor máximo de 29,3 % (para o reator sem alcalinidade) e valores mínimos próximos de 1% para um período de cerca de 7 dias de operação.

5.5.4 Conversão global a AOVs (%)

A análise apresentada é referente aos valores de conversão global de CQO a AOV's em termos de percentagem (%), para todos os reatores em função das razões F/M aplicadas para a temperatura mesofílica e sem correção de pH. Esta análise é referente ao último dia de operação dos reatores.

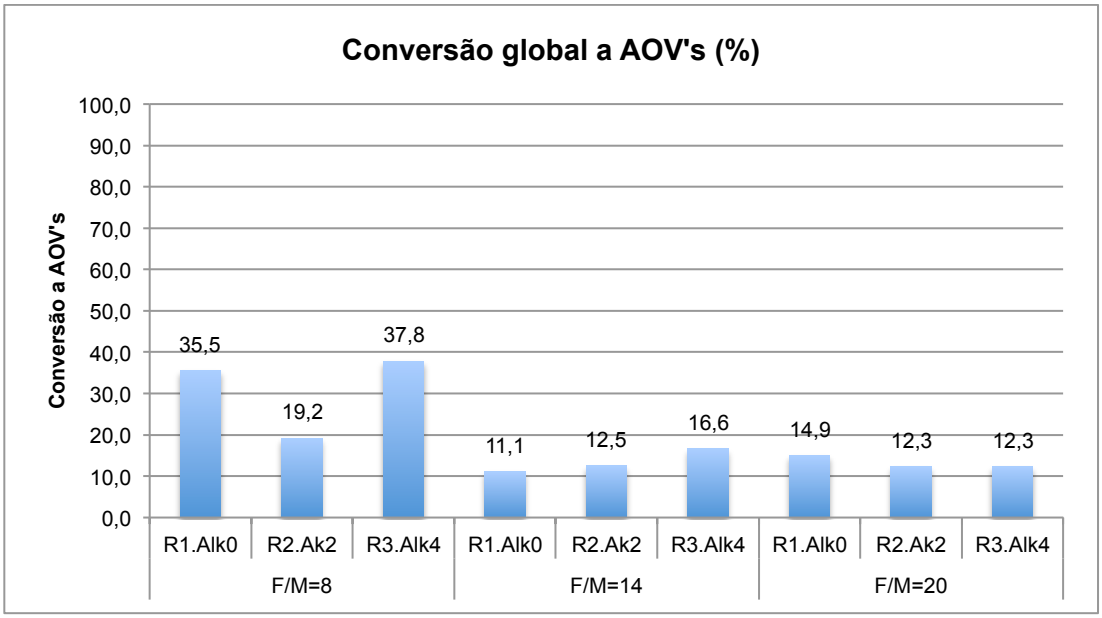


Figura 61 - Conversão global de COQ a AOV's (%) para o dia final de operação dos reatores com e sem alcalinidade em função razão F/M para a temperatura de 37ºC.

Na Figura 61 apresentam-se os valores de conversão global de CQO a AOV's para o último dia de operação experimental , respectivamente, para o ensaio relativo a F/M= 8 temos para análise os valores relativos ao 21º dia, para F/M=14 os referentes ao 18ºdia e para o último ensaio de F/M=20 os relativos ao 31º dia. No caso deste último ensaio, na realidade os dias com maior produção de AOV's verificaram-se aquando as primeiras horas de monitorização. Os valores apresentam algumas incongruências já referidas anteriormente na análise de pH, CQO solúvel e TAOV's.

Relativamente ao ensaio de F/M= 14, que temporalmente foi o último a ser realizado, não foi possível obter a análise integral de todas as amostras obtidas para análise de AOV's, pelo que os dias considerados, não são referentes a uma análise total de produção de AOV's, mas sim a algumas amostras que foram selecionadas, já que houve a substituição do equipamento em causa que possibilitou que assim fosse possível apresentar dados relativos a este ensaio.

Deste modo, atendendo as considerações realizadas, observa-se pelo gráfico apresentado na Figuras 61 que a maior percentagem de conversão de 37,8% é obtida para o Ensaio 1 com F/M=8 para uma alcalinidade adicionada de 4 g $CaCO_3$/L. Por sua vez, a percentagem de conversão é mínima para o ensaio com carga (F/M=14) e com alcalinidade nula, alcançando um valor de 11,1%. No entanto as percentagens de conversão são também baixas e praticamente iguais para F/M=20 com alcalinidade adicionada (de 2 e 4 g $CaCO_3$/L) com valores de 12,3%.

Verifica-se assim que o aumento da carga aplicada ao reactor diminui a conversão global a AOVs (%).

Para F/M=14 a % de conversão global a AOV's aumenta com o aumento da alcalinidade e para F/M=20 verifica-se exactamente o contrário, sendo a maior percentagem de conversão obtida para o reator sem alcalinidade.

De salientar que, a maior conversão de CQO a AOVs (%) constatada para F/M=18, pode ser devida á diferença do tempo de operação dos reactores, 21 dias para os reactores operados a F/M=8, 18 dias para os reactores a operados F/M=14 e 31 dias para os reactores a operados F/M=20 (Tabela 12). Assim é apresentada a conversão global a AOV's para o 18º dia (menor período de monitorização).

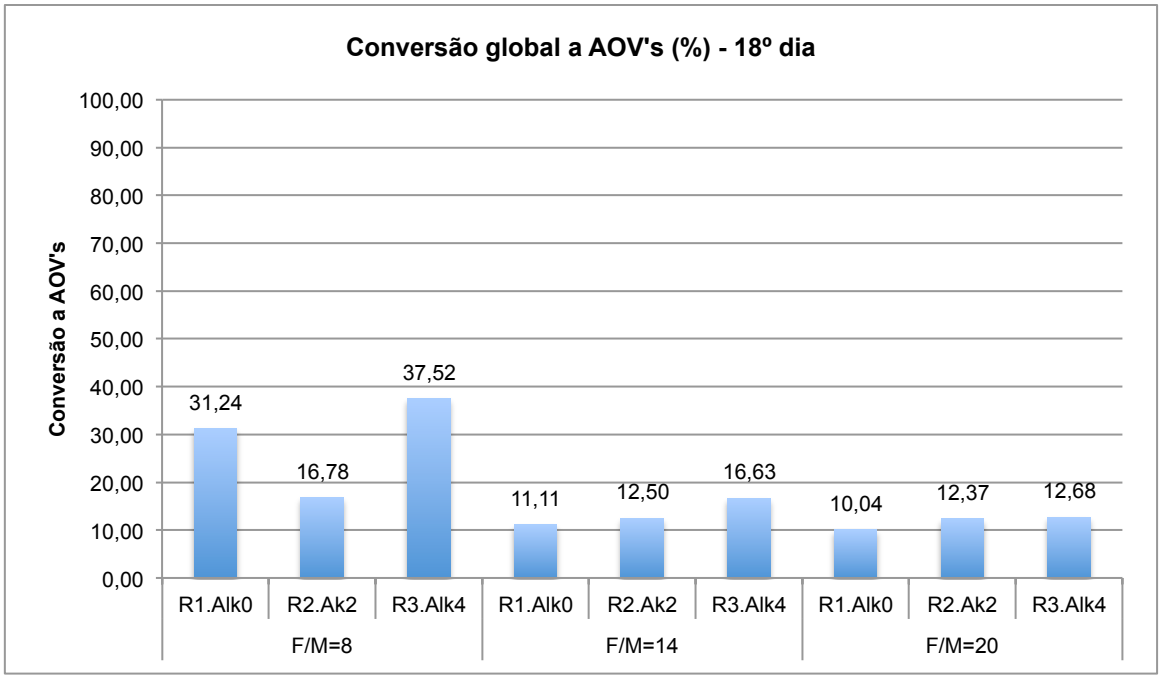


Figura 62 - Conversão global de COQ a AOV's (%) para o 18ºdia para os reatores com e sem alcalinidade em função razão F/M para a temperatura de 37ºC.

Consideranado os resultados apresentados para o 18º dia, verifica-se uma vez mais que o aumento da carga aplicada ao reactor diminui a conversão global a AOVs (%).

Em comparação com os resultados anteriores, em que se verificava que a percentagem de conversão global a AOV's aumentava com o aumento da alcalinidade para F/M=14 e para F/M=20 verificava-se exactamente o contrário, temos que o aumento da alcalinidade beneficia a conversão a AOV's para os ensaios de maior F/M.

Os valores obtidos para a Figura 61 e 62 em termos de percentagem de conversão são semelhantes.

5.5.5 Conversão global nos diferentes produtos da digestão (%)

Apresentam-se os valores de conversão global de CQO inicialmente alimentada nos diferentes produtos da digestão anaeróbia no final de cada ensaio para os reatores com a razão F/M=14 aplicada.

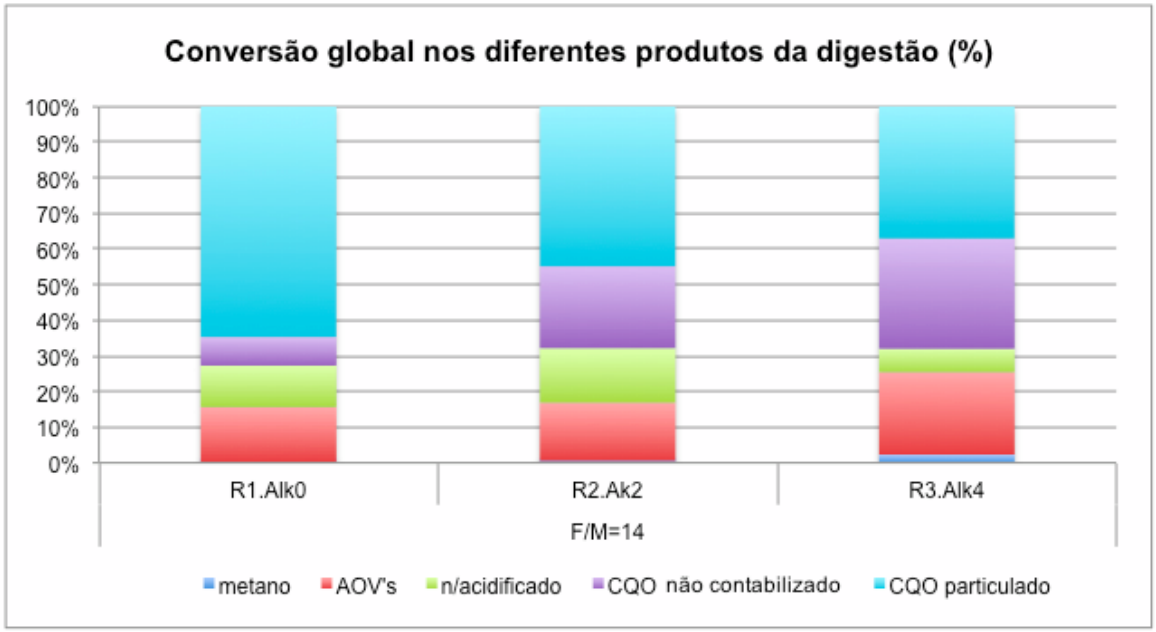


Figura 63 - Distribuição da massa de CQO no fim de cada ensaio em função dos reactores com e sem alcalinidade para F/M= 8, 14 e 20 para a temperatura de 37ºC.

No gráfico da figura 62, apresenta-se a massa de CQO alimentada inicialmente distribuída pelos diferentes produtos da acidificação anaeróbia, pela produção acumulada de metano no fim de cada ensaio para cada reactor , sob a forma de material particulado e não contabilizado.

Para a apresentação dos resultados, apenas são incluídos os dados relativos ao ensaio 3 com F/M=14, uma vez que se verifica para o ensaio 1 e 2 valores de TAOV's > CQOs, o que não é correto. Assim para esses ensaios o balanço não é possível ser realizado, uma vez que traduz-se em parcelas negativas. Para o ensaio 3 com F/M=14 foi utilizado um novo aparelho medidor de AOV's, e assim estes resultados consideram-se como os mais corretos para esta análise.

Analisando o gráfico da Figura 62 verifica-se que no final do ensaio, grande parte da massa de CQO inicialmente alimentada encontra-se sob a forma de material particulado e não contabilizado. Respetivamente para o reator R1, R2 e R3, temos como percentagens de CQO sob a forma de material particulado de cerca de 65%, 45% e 35% e de CQO retido ou adsorvido na biomassa de 5%, 20% e 30%.

A fração transformada a AOV's para todos os reatores apresenta valores entre 15% a 20 % da massa alimentada, com o valor mais alto para o reator com a maior alcalinidade adicionada, R3.Alk4.

Em relação à fração de massa alimentada que foi transformada a metano, nada se pode concluir pois como foi referido anteriormente, existem dúvidas sobre a fiabilidade da sua contabilização devido a possíveis fugas possam ter ocorrido. Petruy e Lettinga (1997) em um estudo com emulsão de gordura de leite com um reactor EGSB á escala laboratorial (T=30ºC) verificaram uma baixa conversão a metano, facto que atribuiem aos lípidos que são um dos principais constituintes de efluentes residuais da industria agroalimentar como as lamas DAF.

Para o ensaio apresentado, verifica-se que grande parte da massa inicialmente alimentada encontra-se sob a forma de material particulado e não contabilizado. No entanto para o R1 sem adição de alcalinidade, a fração relativa a AOV's é significativamente superior á não contabilizada. Para os reatores de maior alcalinidade, a massa de CQO inicialmente alimentada que se encontra sob a forma de AOV's é maior.

Observa-se também que para a maior parte dos reatores, uma percentagem de massa de CQO não acidificada, ou seja, de compostos que não sofreram acidificação, entre 5% e 10%.

Pode-se concluir que como para todos os reatores do ensaio 3, grande parte da massa de CQO inicialmente alimentada se encontra sob a forma de material particulado e não contabilizado, e que possivelmente ocorreu a inibição da primeira fase da DA, a hidrólise. Petruy e Lettinga (1997) obtiveram também um valor muito baixo da constante de hidrólise para os ensaios realizados no reator EGSB. Arroja et al. (2012) refere também que no no processo de acidificação de lamas DAF (T=37ºC) a hidrólise foi o passo limitante da velocidade do processo de acidificação.

Salienta-se que para a globalidade dos ensaios realizados, a biomassa utilizada não se encontrava adaptada ao substrato, sendo que eram sempre utizadas lamas biológicas frescas.

5.5.6 Biodegradabilidade

Na figura seguinte, são apresentados os valores Valores de CQO total adicionado inicial e CQO final com a respetiva % de biodegradabilidade para F/M= 8, 14 e 20 para a temperatura de 37ºC (Figura 63).

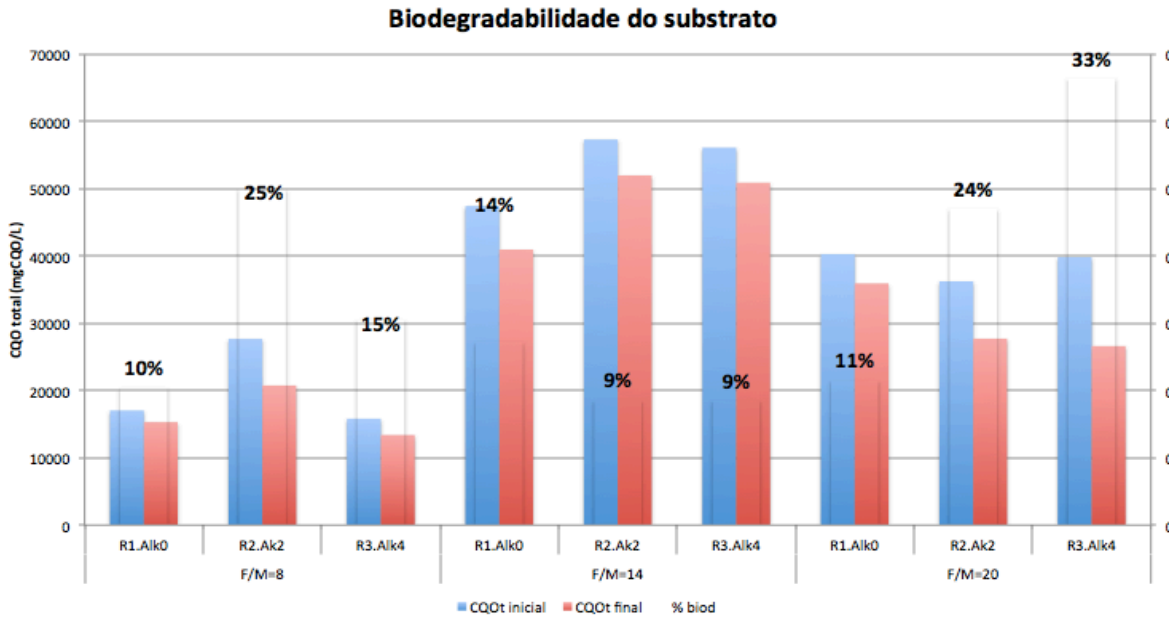


Figura 64 - Valores de CQO total adicionado inicial e CQO final com a respetiva % de biodegradabilidade para F/M= 8, 14 e 20 para a temperatura de 37ºC.

Pela análise da Figura 63 verifica-se que o substrato atinge uma biodegradabilidade máxima de 33% após 31 dias, correspondendo este valor ao ensaio de maior F/M aplicado e com maior alcalinidade, R3.Alk4. Para a análise de biodegradabilidade o tempo de operação dos reactores influência os resultados obtidos. Para os ensaios com F/M=8, F/M=14 e F/M=20 temos respetivamente 21, 18 e 31 dias de monitorização (Tabela 12), verificando-se o maior valor de biodegradabilidade para o ensaio com maior período de operação.

Para o tipo de substrato utilizado, lamas DAF, os valores de biodegradabilidade baixos são esperados. As lamas DAF uma vez que contêm como principal componente lípidos, demonstram valores de biodegradabilidade baixos.

A aplicação em tratamento anaeróbio de águas residuais contendo lípidos, tais como os da indústria de laticínios, demonstraram biodegradabilidade baixa (Rinzema, 1988). Petruy e Lettinga (1997) obtiveram no seu estudo da biodegradabilidade de uma emulsão de gordura de leite com um reactor EGSB (T=30ºC) uma biodegradabilidade baixa de (30%) para 27 dias de operação, valor próximo do obtido para o ensaio 3 de F/M=14.

6 CONCLUSÕES

Este trabalho centrou-se no estudo do processo de fermentação acidogénica de lamas gordas de uma indústria de lacticínios com vista a produção de biopolímeros. O desenvolvimento deste trabalho deu principal importância à influência da alcalinidade e da razão F/M aplicada no processo de acidificação anaeróbia.

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

Durante esta pesquisa foi realizada uma avaliação do pH e alcalinidade. Os resultados demonstraram que relativamente aos valores de pH obtidos, estes encontram-se dentro dos limites óptimos sugeridos para o desenvolvimento de processos anaeróbios durante o período experimental. Verificou-se também para a globalidade dos ensaios, valores pH sem grandes variações no decorrer dos ensaios,o que indicia a estabilidade presente no processo de DA. As variações encontradas devem-se predominantemente á presença de AOV's que podem causar toxicidade e provocar um pH adverso.

Por sua vez, conclui-se que a alcalinidade foi suficiente para neutralizar os AOV's produzidos durante o processo de digestão anaeróbia, agindo como um sistema tampão. De forma global para todos os ensaios verificou-se que a alcalinidade era sempre superior no final dos ensaios. Tal facto é justificado por Khanal (2008) que enuncia que durante a DA a matéria orgânica, (composta principalmente por proteínas), forma amoníaco (NH_3) livre e subsequentemente, este composto ao reagir com o CO_2 produzido durante o processo anaeróbio, resulta em bicarbonato de amónia, o que contribui para o aumento da alcalinidade do sistema.

Para os ensaios realizados, a produção de metano foi baixa, com uma produção de metano máxima de 343 ml para o ensaio de F/M=14. A baixa produção de metano está associada ás características das lamas DAF que apresentam um elevado teor em lípidos. Petruy e Lettinga (1997) obtiveram os mesmos resultados em um estudo com emulsão de gordura de leite com um reactor EGSB á escala laboratorial (T=30ºC). No entanto também existe a possibilidade de se terem verificado fugas na instalação aquando a realização experimental. Por outro lado, segundo Alcocer (1988) e Wang et al. (2006) o ácido propiônico em elevadas concentrações (superiores a 900 mg/L) pode causar inibição das bactérias metanogénicas. Sendo o ácido propiónico um dos AOV's predominantes para os ensaios realizados, é possível inferir que a sua presença levou á inibição das bactérias metanogénicas e consequentemente houve uma baixa produção de metano. Na investigação realizada, a concentração mais elevada de ácido propiónico foi de 1277 mg/L (1570 mg ácido acético/L) para F/M=20 no reator sem adição de alcalinidade.

Uma vez que se pretendia a acidogénese do substrato e a consequente inibição da metanogénese no processo de digestão anaeróbia, considerando as possíveis fugas desprezáveis, considera-se que tal objectivo foi alcançado. Relativamente á possibilidade de usar o CH_4 produzido como fonte de energia, neste tipo de ensaios não se revela como viável.

Os perfis relativos á análise de AOV's demonstram durante todos os ensaios a presença de todos os ácidos analisados, ácido Acético, ácido Propiónico, ácido I-butírico, ácido N-butírico, ácido I-valérico, ácido N-valérico e o ácido n-capróico, perfazendo na totalidade sete AOV's.

As concentrações máximas de TAOV's ocorreram no 4º dia (5435 mg ácido acético/L) para F/M=8, ás 0horas (11781 mg ácido acético/L) para F/M=20 e no 18ºdia (7778 mg ácido acético/L) para F/M=14, com os ácidos n-butírico, propiónico e acético como AOV's predominantes no processo. Demirel e Yenigün (2006) obtiveram também maioritariamente como produtos de acidogénese, os ácidos acético, propiónico e butírico, na acidogénese de um efluente da industria de leite em reatores UASB (36ºC), referindo que estes são os AOV's maioritariamente produzidos durante a acidogénese mesofílica de resíduos da indústria de leite. Yang et al. (2007) e Bengtsson et al. (2008) relataram também a predominância de ácidos n-butírico e acético em experiências com águas residuais de queijo e de soro de queijo, respectivamente.

Para as condições testadas, os parâmetros operacionais alcalinidade e F/M apresentam influência na produção de AOV's. Segundo Arroja et al. (2012) a alcalinidade é um dos factores que influencia mais claramente a concentração máxima atingível de AOV's. Tal citação refere-se a ensaios realizados á mesma temperatura abordada neste trabalho experimental, T=37ºC em reatores também batch com diferentes alcalinidades entre si variando entre 0 e 10 g $CaCO_3$. Tal afirmação apenas se encontra coerente com os resultados obtidos para F/M=14, em que a maior concentração em de AOV´s foi obtida para o reator com maior alcalinidade. No entanto, para F/M=8 o maior valor de AOV's foi obtido para a alcalinidade intermédia (2 g $CaCO_3$/L) e para F/M= 20 foi obtido para o reator sem alcalinidade adicionada.

Constatou-se que para os valores de F/M testados, que o aumento do valor de F/M imposto beneficia a produção em termos de produção total de AOV's. O maior valor obtido foi de 11781 mg ácido acético/L para F/M=20 bastante superior ao do ensaio operado com F/M=8 com 5435 mg ácido acético/L.

Em termos de conversão de CQOadicionado a AOV's é também verificada a influência do valor de F/M. Na maioria do período experimental a % de CQO adicionado a AOV's não superou os 38% para todos os ensaios. As maiores % verificam-se nos reatores com adição de alcalinidade (F/M=8 e F/M=14) com 37,8% e 16,4%. No entanto para o ensaio F/M= 20 verificou-se uma maior conversão para o reator sem alcalinidade (29,3%). No entanto considerando que a fiabilidade dos dados relativos á determinação dos AOV's para os ensaios 1 e 2, (F/M=8 e F/M=20), considera-se pelo ensaio 3 de F/M=14 que o aumento de alcalinidade promove uma maior conversão de CQO a AOV's, o que também Arroja et al. (2012) verificou para o mesmo substrato em estudo. Considerando os valores de % de conversão de CQO a AOV's apresentados na tabela 7, nomeadamente o respeitante aos ensaio de Arroja (2012) em que o substrato utilizado foi o mesmo, em que alcançou um % de conversão de 27% (T=37ºC) o valor máximo obtido para F/M=14 de 16,4% é baixo.

As percentagens de AOV's que se pretendiam com valores próximos de 30% e 70% respectivamente para o ácido propiónico e ácido acético não foram alcançadas. A maior percentagem em termos de composição de AOV's para o TAOV's obtido regista-se para F/M=20 para o ácido n-caproico com 92,42%, sendo este valor pontual pelo que não representa a totalidade do ensaio. Para a globalidade dos ensaios, nos dias de maior produção de TAOV's as percentagens referentes a cada ácido não ultrapassam os 25%.

Uma vez que para a análise da conversão global de CQO inicialmente alimentada nos diferentes produtos da digestão anaeróbia dos ensaios relativos a F/M=8 e 20 o balanço mássico não se encontra correcto, devido a erros que derivam da calibração relativa á análise de AOV's, não foi possível concluir de que modo o valor de F/M pode influenciar esta conversão. Apenas se fazem assim conclusões relativamente ao ensaio 3 de F/M=14. Para os reatores de maior alcalinidade, a massa de CQO inicialmente alimentada que encontra-se sob a forma de AOV's é maior. Deste modo é possível concluir que a distribuição da massa de CQO inicialmente alimentada é influenciada pela alcalinidade. Pode-se concluir que como para todos os reatores do ensaio 3, grande parte da massa de CQO inicialmente alimentada se encontra sob a forma de material particulado e não contabilizado, que possivelmente ocorreu a inibição da primeira fase da DA, a hidrólise. Como anteriormente verificou-se a a fração de massa alimentada que foi transformada a metano é foi baixa, facto explicado pela constituição das lamas DAF ser essencialmente lipidica.

A biodegradabilidade do substrato máxima foi de 33% após 31 dias, correspondendo este valor ao ensaio de maior F/M aplicado e com maior alcalinidade, R3.Alk4, verificando-se o maior valor de biodegradabilidade para o ensaio com maior período de operação. Para o tipo de substrato utilizado, lamas DAF, os valores de biodegradabilidade baixos são esperados. uma vez que contêm como principal componente os lípidos.

Os resultados obtidos neste trabalho permitem confirmar que a fermentação acidogénica de lamas gordas é viável para a obtenção de AOV's no entanto a posterior produção de biopolímeros só será possível com um composição de AOV's próxima ou idealmente igual a 30% e 70% respectivamente de ácido propiónico e ácido acético os quais possibilitam a produção de monómeros e consequentemente biopolímeros com propriedades semelhantes aos plásticos.

7 BIBLIOGRAFIA

- Aamer Ali Shah, Fariha Hasan, Abdul Hameed and Safia Ahmed, (2008) “Biological degradation of plastics: A comprehensive review.” Biotechnology Advances Volume 26, Issue 3, May 2008 Pág. 246-265
- Albuquerque, M.G.E., Eiroa, M., Torres, C., Nunes, B.R., e Reis, M.A.M. (2007). "Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses". Journal of Biotechnology. Vol. 130, No. 4: Pág.411-421.
- Albuquerque, M.G.E., Martino, V., Pollet, V., Avérous, L., Reis, M.A.M. (2011). “Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acids (VFAs)-rich streams: Effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties.” Journal of Biotechnology. Vol. 151, N°1, Pág.. 66-76.
- Alcocer, M. S. B. (1988). “The effect of pH on microbial interactions in the presence of propionic acid in anaerobic digestion”. PhD Thesis, University of Newcastle Upon Tyne, United Kingdom.
- ANIL - Associação Nacional dos Industriais de Lacticínios International (2012) Boletim de informação de Julho de 2012. Boletim nº7/2012.
- Anil Kumar, P.K., Shamala, T.R., Kshama, L., Prakash, M.H., Joshi, G.J., Chandrashekar, A., Latha Kumari, K.S., and Divyashree, M.S. (2007). "Bacterial synthesis of poly(hydroxybutyrate- co-hydroxyvalerate) using carbohydrate-rich mahua (Madhuca sp.) flowers". Journal of Applied Microbiology. 103(1): 204-209.
- APHA - American Public Health Association (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (19 edition), APHA, American Public Health Association, Washington, D.C.
- Aquino, S.F e Chernicharo, C.A.L. (2005) “*Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle.* Engenharia Sanitária e Ambiental”, v. 10, n. 2, Pág. 152-161.
- Arroja, L., Capela, I., Nadais, H., Serafim, L., Silva, F. (2012). “Acidogenic Valorisation of High Strength Waste Products from Food Industry, Industrial Waste”, Available from: http://www.intechopen.com/books/industrial-waste/acidogenic-valorisation-of-high-strength-waste-products-from-food-industry
- Avérous, L. (2008) Polylactic Acid: “Synthesis, Properties and Applications. In: Belgacem M. N.; Gandini A. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources.”* Eds: *Belgacem & Gandini,* Oxford: Elsevier, Pág. 430-450

- Azevedo, F. (2010) “Optimização da fase acidogénica termofílica para produção de biopolímeros.” Dissertação submetida para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Ambiente. Universidade de Aveiro.
- Bengtsson, S., Pisco, A.R., Reis, M.A.M., and Lemos, P.C. (2010) "Production of polyhydroxyalkanoates from fermented sugar cane molasses by a mixed culture enriched in glycogen accumulating organisms". Journal of Biotechnology. 145(3): 253-263.
- Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M., and Welander, T. (2007) "Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater". Bioresource Technology. 99(3): 509-516.
- Bengtsson, S.; Hallquist, J.; Werker, A. & Welander, T. (2008). “Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production.” Biochemical Engineering Journal, Vol. 40, No. 3, Pág. 492-499.
- Bordes P., Pollet E., Avérous L. (2009) “Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems.” Progress in Polymer Science, Vol. 34. Pág. 125-155.
- Braunegg, G., Lefebvre, G. and Genser, K.F. (1998) “Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: Physiological and engineering aspects.”, *Journal of Biotechnology,* Vol. 65, No. 2-3, Pág. 127-161.
- Brito, G.F., Agrawal P., Araújo E.M., Mélo, T.J.A., (2011) “Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes”; Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.6.2 , Pág.127-139,
- Britz, T.J.a.C., van Schalkwyk, C., Hung, Y.-T., (2006) “Treatment of dairy processing wastewaters.” in: L.K. Wang, Y.-T. Hung, H.H. Lo, C. Yapijakis (Eds.), Waste treatment in the food processing industry. CRC Press, E.U.A., Pág. 1-28.
- Capellari (2010) “Biossíntese de ácido láctico por Lactobacillus amylovorus a partir de resíduos agroindustriais.” Universidade da região de Joinville – Univille Mestrado em Engenharia de Processos. Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos, na Universidade da Região de Joinville.
- Castllho Jr, Lange; Gomes, L. C.; Pessin, N. (2003) “Resíduos Sólidos Urbanos: aterro sustentável para municípios de pequeno porte.“ABES, RiMa, Rio de Janeiro. Projeto PROSAB.
- Chaudhary BK (2008) “Dry continuous anaerobic digestion of municipal solid waste in thermophilic conditions.” M. E. Thesis. Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand.

- Chen, G. G. Q. (2005) "Polyhydroxyalkanoates. In: Smith, R. *Biodegradable Polymers for Industrial Application.* Cambridge: Woodhead Publishing.
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. (2008). "Inhibition of anaerobic digestion process: A review." *Bioresour. Technol.* 99: 4044-4064.
- Chernicharo, C. A. L. (2007) "Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico de águas residuárias." Belo Horizonte: Politécnica, Pág. 379.
- Chua, A.S.M.; Takabatake, H.; Satoh, H.; Mino, T. (2003) "Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent." Water Research 37 (2003) Pág. 3602–3611
- Comissão da Comunidade Europeia (CCE)- Working Document on sludge, 3rd Draft, Brussels, 27 April, 2000.ENV.E.3/LM., 2000, 19p.
- Costa, D., (2011) "Caracterização e tratamento de efluentes resultantes da actividade de produçãoo de queijo." Dissertação apresentada na faculdade de ciências e tecnologia da universidade nova de lisboa para obtenção do grau de mestre em engenharia do ambiente. Universidade nova de Lisboa
- Decreto-Lei nº 152/2002, de 23 de Maio. *Diário da República no119/2002 – I Série A.* Estabelece o regime jurídico a que fica sujeito o procedimento para a emissão de licença, instalação, exploração, encerramento e manutenção pós-encerramento de aterros destinados à deposição de resíduos e procede à transposição para a ordem jurídica nacional a Directiva no 1999/31/CE, do Conselho de 26 de Abril. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.
- Demirel, Burak, Yenigün, Orhan (2006) "Changes in microbial ecology in an anaerobic reactor." Bioresource Technology, 97, Pág. 1201-1208.
- Dionisi, D., Carucci, G., Petrangeli, M., Papini, P., Riccardi, C., Majone, M., Carrasco, F., (2005). "Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers." Water Ressource. 39, 2076–2084.
- Directiva Comunitária nº 1999/31/CEE, do Conselho, de 26 de Abril, relativa à deposição de resíduos em aterros. Conselho Europeu. (JO *L 182 de 16.07.1999).*
- Directiva Comunitária nº 86/278/CEE, do Conselho, de 12 de Junho, relativa à protecção do ambiente, em especial dos solos, na utilização de lamas de depuração. Conselho Europeu. (JO L 181/6 de 4.07.1986)

- European Commission – Directorate-General Environment (2001) "*Working Document: Biological Treatment of Biowaste – second draft".*
- Evans, G. (2001) "*Biowaste and biological waste treatment."* The Cromwell press. ISBN: 1-902916-08-5.
- ENEAPAI - Estratégia Nacional para os Efluentes Agro-Pecuários e Agro-Industriais (2007) Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. 1ºEd.
- Fang, Herbert H. P. & Yu, H. Q. (2000) "Effect of HRT on mesophilic acidogenesis of dairy wastewater." Journal of Environmental Engineering, Vol. 123, No. 12, Pág. 1145-1148, 0733-9372.
- Silva, F. (2009) "Digestão anaeróbia por via seca, como alternativa ao actual destino agrícola, das lamas desidratadas de ETAR's – possibilidades de extensão a vários tipos de resíduos com elevado teor de matéria orgânica." Universidade do Porto. Dissertação submetida para obtenção do grau de Mestre Tese de mestre em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- Finkler, L. (2006) "Produção de polihidroxialcanoatos por cupriavidus necator usando ácido acrílico como fonte de carbono." Tese submetida ao corpo docente da coordenação dos programas de pós-graduação de engenharia da universidade federal do rio de janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de doutor em ciências em engenharia química.
- Flor, A.P., (2006) "Comportamento de reactores anaeróbios tratando a fracção orgânica dos resíduos sólidos urbanos." Dissertação submetida para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Ambiente. Universidade de Aveiro Universidade de Aveiro.
- Foresti, E. (1993) "Sulfide toxicity on a UASB reactor." In: ASAE International Winter Meeting, The Society for Engineering in Agricultural, Food, and Biological Systems, ASAE INDEX Nº 93-6522, Chicago, USA
- Foresti, E. (1994) "Fundamentos do processo de digestão anaeróbia." In.: Seminário Latino americano.3, 1994. Montevidéo., 1994. Pág.97-110
- Gerardi, M.H. (2003) "*The microbiology of anaerobic digesters."* John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Gutiérrez, J.L.R., Encina, P.A.G., Fdz-Polanco, F., (1991) "Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB reactor." *Bioresource Technology,* 37, Pág.271-276.

- INE (2011) Estatísticas de recolha e transformação de leite, Instituto Nacional de Estatística. Página da Internet do INE consultada em Outubro de 2012. http://www.ine.pt
- INETI – Plano Nacional de Prevenção de Residuos Industriais. (2001) Guia Técnico sectorial – Indústria de Lacticinios. Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial Lisboa.
- International Dairy Federation – Bulletin of the International Dairy Federation (2010) "The World Dairy Situation 2010". Bulletin No 446/2010
- Isidoro, C., (2009). "Fermentação acidogénica para produção de substratos de biopolímeros" Dissertação submetida para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Ambiente. Universidade de Aveiro.
- Kayhanian, M., Rich, D., (1995) "Pilot-scale high solids thermophilic anaerobic Digestion of municipal solid waste with an emphasis on nutrient requirements." Biomass Bioenergy 8, Pág. 433–444
- Khanal, Samir Kumar (2008) "Overview of Anaerobic Biotechnology. "In Anaerobic biotechnology for bioenergy production: principles and applications. Ames, Iowa: Wiley Blackwell.
- Kolybaba M., Tabil L.G., Panigrahi S., Crerar W.J., Powell T., Wang B., (2003). Biodegradable Polymers: Past, Present and Future. ASAE meeting presentation, Fargo, S.U.A,
- Kumar, A., Shamala, P.K., Ksham, T.R., Prakash, L., Joshi, M.H., Chandrashekar, G.J., Kumari, A., Latha, K.S., e Divyashree, M.S. (2007). "Bacterial synthesis of poly(hydroxybutyrate- co-hydroxyvalerate) using carbohydrate-rich mahua (Madhuca sp.) flowers". Journal of Applied Microbiology. 103(1) Pág. 204-209.
- Lee, S. Y. (1996) "*Plastic bacteria? Progress and prospects for PHA production in bacteria."* Tibtech ., v. 14, p. 431-438.
- Lee, S.Y. (1996) "Bacterial polyhydroxyalkanoates - Review." Biotechnology and Bioengineering, 49, Pág.1-14.
- Lemos, P. C.; Levantesi, C.; Serafim, L. S.; Rossetti, S.; Reis, M. A. M. & Tandoi, V. (2008) "Microbial characterisation of polyhydroxyalkanoates storing populations selected under different operating conditions using a cell-sorting RT-PCR approach." Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 78, No. 2, pp. 351-360, 0175-7598
- Lemos, P. C.; Serafim, L. S. & Reis, M. A. M. (2006) "Synthesis of polyhydroxyalkanoates from different short-chain fatty acids by mixed cultures submitted to aerobic dynamic

feeding." Journal of Biotechnology, Vol. 122, No. 2, Pág. 226-238, 0168-1656

- Leonard, Anne M. (1996) "Activated Sludge Treatment of Dairy Processing Wastewaters: The role of selectors for the control of sludge bulking." Massey University. Thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy at Massey University

- Li, Y., Park, S. Y., and Zhu, J. (2011) "Solid-state anaero- bic digestion for methane production from organic waste." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (15): Pág. 821–826.

- Lusk, P. (1998) "*Methane recovery from animal manures – the current opportunities casebook."* National Renewable Energy Laboratory, U.S. Department of Energy, Washington DC.

- McCarty P.L., (1964) "Anaerobic waste treatment fundamentals – part one: chemistry and microbiology; part two: environmental requirements and control, part three: toxic materials and their control" parte 4: process design, Public Works

- Mohanty, A. K.; Misra, M.; Drzal, L. T.; Selke, S. E.; Harte, B. R.; Hinrichsen, G. (2005) "Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites: An Introduction." In: Mohanty, A. K.; Misra, M.; Drzal, L. T. *Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites.* Boca Raton: Taylor & Francis.

- Nadais, H., (2001) "Tratamento de Efluentes de Industrias de Lacticinios em reactores UASB com funcionamento intermitente." Tese de Doutoramento, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

- O'Flaherty, V., Collins, G., Mahony, T. (2006) "The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment." *Reviews In Environmental Science And Bio/Technology*,

- Ostrem, K. (2004) "Greening Waste: Anaerobic Digestion for Treating the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes." Master's thesis, Department of Earth and Environmental Engineering Fu Foundation of School of Engineering and Applied Science, Columbia University.

- Parawira W., Murto M., Read J.S. and Mattiasson B. (2004) "Volatile fatty acid production during anaerobic mesophilic digestion of solid potato waste." Journal of Chemical Technology and Biotechnology (2004) 79: Pág 673-677.

- Peres, C. S. et al. (1991) "Anaerobic biodegradabilityof the organic components of municipal solid waste". São Paulo, Brasil. Paper preprints. VI International Symposium of Anaerobic Digestion, Pág. 12-16.

- PEASAR II - Plano Estratégico de Abastecimento de Água e de Saneamento de Águas Residuais (2007). Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. 1ºEd.
- Petruy R., Lettinga G. (1997) "Digestion of a milk-fat emulsion." Bioresource Technology, 61, Pág 141-149.
- Plastics Europe (2008) Página da Internet da PlasticsEurope, consultada em Outubro de 2012. http://www.plasticseurope.org/Content/Default.asp.
- Plastval (2011) Página da Internet da Plastval, consultada em Setembro de 2012. http://www.plastval.pt.
- Rapport J, Zhang R, Jenkins BM, Williams RB. (2008) "Current anaerobic digestion technologies used for treatment of municipal organic solid waste." California Environmental Protection Agency.
- Pradella, J. (2006) "Biopolímeros e Intermediários Químicos." Centro de Tecnologia de Processos e Produtos. Relatório Técnico nº 84 Pág.396-205
- Reddy, C.S.K., Ghai, R., Kalia, R.V.C., (2003) "Polyhydroxyalkanoates: an overview." Bioresource Technology. 87, Pág 137 e 146.
- Rinzema A. (1988) "Anaerobic treatment of wastewater with higt concentration of lipid or sulphate." Ph.D thesis, Wageningen Agricultural University Wageningen, The Netherlands.
- Rodrigues, S. (2008) "Concepção e avaliação de sistema de tratamento com reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) e lagoa de polimento para águas residuárias de suinocultura". Dissertação apresentada na universidade federal de minas gerais para obtenção do grau de doutor em ciência animal. Universidade Federal de Minas Gerais.
- Santos, M., (2010) "Influência da temperatura na eficiência de tratamento de efluentes em reatores UASB" Trabalho de conclusão de graduação.Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Engenharia. Curso de Engenharia Química
- Sector Reciclagem (2001) Página da Internet da Sector Reciclagem, consultada em Setembro de 2012. http://www.setorreciclagem.com.br
- Silva, F. (2012) – Comunicação pessoal em 2012.
- Soares, M. (2010) "Influência da temperatura na eficiência de tratamento de efluentes em reatores UASB". Universidade federal do rio grande do sul trabalho de diplomação em engenharia química. Porto Alegre.

- Song, J.H., Murphy, R.J., Narayan, R. & Davies, G.B.H. (2009) "Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics." Philosophical Transactions of the Royal Society B 364: Pág. 2127-2139.
- Song, Young-Chae, Kwon, Sang-Jo, Woo, Jung-Hui (2004) "Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge." Water Research, 38, Pág**.** 1653-1662.
- Sosnowski, P., Wieczorek, A., Ledakowicz, S., (2003). "Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes." Adv. Environ. Res.7, Pág 609–616.
- Sousa, R. José (2005) "Estratégias de Gestão de lamas das estações de tratamento de águas residuais (ETAR). Extrusão de lamas para aplicação na agricultura." Dissertação submetida para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Ambiente (Ramo de Gestão e Tratamento de Resíduos Industriais). Universidade do Porto
- Steinbuchel, A. and Lutke-Eversloh, T. (2003) "Metabolic engineering and pathway construction for biotechnological production of relevant polyhydroxyalkanoates in microorganisms." Biochem Eng J 3734 Pág.1 -16.
- Themelis, N.J.,H.Y.Kim, and M.Brady (2002): "Energy Recovery from New York City solid wastes." Waste Management and research 20 (3) Pág. 223-233
- Van Haandel, A.C., Lettinga, G. (1994) "Anaerobic Sewage Treatment – A practical guide for regions with a hot climate." John Wiley & Sons, UK.
- Wang L, Zhou Q, Li FT (2006) "Avoiding propionic acid accumulation in the anaerobic process for biohydrogen production". Biomass Bioenergy 30 Pág.177- 182.
- Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J. and Meng, L. (2009) "Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bactéria". Biomass and bioenergy, 33, Pág. 848-853.
- Ward, Patrick G.; Roo, Guy de ; O' Connor, Kevin E. (2005) "Accumulation of Polyhydroxyalkanoate from Styrene and Phenylacetic Acid by *Pseudomonas putida* CA-3" Appl. Environ. Microbiol. April 2005 vol. 71 no. 4 Pág.2046-2052
- Yebo Li, Stephen Y. Park, Jiying Zhu (2010) "Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste." 15.Pág. 821-826.
- Yang K., Yu Y., Hwang S. (2003) "Selective optimization in thermophilic acidogenesis of cheese- whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation". Water Research, 37, Pág 2467-2477.

- Yu, H. Q. & Fang, H. H. P. (2001) "Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters." Water Research, Vol. 35, No. 15, Pág 3697-3705, 0043-1354
- Yu, H. Q. & Fang, H. H. P. (2002) "Anaerobic acidification of a synthetic wastewater in batch reactors at 55 ºC." Water Science and Technology, Vol. 46, No. 11-12, Pág 153-157
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2002) "Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels." Water Science and Technology, 45, 10, Pág.201-206.
- Yu H. Q., Fang H. H. P. (2003) "Acidogenesis of gelatine-rich wastewater an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature." Water Research, 37, Pág 55-66.
- Yu H. Q., Fang H. H. P., Gu, G. (2002) "Comparative performance of mesophilic and thermophilic acidogenic upflow reactors." Process Biochemistry, 38, Pág.447-454.
- Yu J. (2001) "Production of PHA from starch wastewater via organic acids." Journal of Biotechnology ,30 March 2001, 86 : Pág.105–112
- Zhao M, Yan Q, Ruan W, Miao H, Ren H, et al. (2010) "Effects of butyric acid stress on anaerobic sludge for hydrogen production from kitchen wastes." J Chem Technol Biotechnol 85: Pág. 866-871
- Zheng LZ, Li Z, Tian HL, Li M, Chen GQ (2005) "Molecular cloning and functional analysis of (R)-3-hydroxyacyl-acyl carrier protein:coenzyme A transacylase from *Pseudomonas mendocina* LZ." FEMS Microbiol Lett 252: Pág 299–307

ANEXOS

Anexo I – Conversão de CH4 em CQO

Para a conversão de CH_4 em CQO foi adotado o seguinte procedimento de cálculo.

- assumindo que o CH_4 se comporta como um gás perfeito no espaço por ele ocupado no reator e sem ter em consideração a pressão de vapor de água.

$$\boldsymbol{P \times V = n \times R \times T} \quad \textbf{(1)}$$

Onde:

P= 1 atm

V= 1 L CH4

R= 0,082 L. atm/K.mol

T= 20°C

n= número de moles que ocupam

um volume V, à pressão P e temperatura T.

- pela equação (1) vem que n= 0,041575 moles de CH4.

- Tendo em conta a equação seguinte,

$$CH_4 + 2\ O_2 \leftrightarrow CO_2 + 2\ H_2O \quad (2)$$

- Então 1 mol de CH4 corresponde a um CQO de 64g.

- Logo 0,041575 moles de CH4 correspondem a um CQO de 2,660795 g CQO/ L CH_4.
(Ou expresso em L CH_4/g CQO → 0,375827 L CH_4/g CQO)

Anexo II – Fatores de conversão do CQO inicial a CQO AOV's

Os fatores de conversão que relacionam a concentração individual de cada AOV com o valor equivalente em termos de CQO (mg O2 L-1) e ácido acético (mg AAc L-1) estão apresentados na tabela 24, que tem por base a estequiometria das equações que traduzem a oxidação dos AOV's.

Exemplo: _____

Ácido acético

$C_2H_4O_2 + 2\ O_2 \leftrightarrow 2\ CO_2 + 2\ H_2O$

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

Tabela 30- Fatores de conversão para ácidos orgânicos voláteis (adaptado de Alexiou, 1998)

AOV	Massa molar (g/mol)	g de CQO	CQO equivalente (CQO AOV)	Ácido acético equivalente AOV
Ácido acético	60	64	1,066	1,00
Ácido propiónico	74	112	1,512	1,23
Ácido butírico	88	160	1,816	1,47
Ácido valérico	102	208	2,036	1,70
Ácido capróico	114	240	2,204	1,93

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

CQOAOV = 1,066 * [Ácido acético] + 1,512 * [Ácido propiónico] + 1,816 * [Ácido butírico] + 2,036 * [Ácido valérico] + 2,204 * [Ácido valérico]

Sendo:

- CQO AOV = concentração equivalente de ácidos orgânicos voláteis em termos de CQO (mg O2 L-1)
- [Ácido i] = concentração de ácido orgânico volátil i (i=acético,..., valérico) (mg L-1)

AOV = Ácido acético /1,00 + Ácido propiónico /1,23 + [Ácido butírico]/1,47 + [Ácido valérico]/1,70 + [Ácido valérico]/1,93

Sendo:

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