



**Carlos Rafael de Pinho Pinto** **Tratamento de efluentes da produção de queijo com elevada salinidade em reatores anaeróbios**





**Carlos Rafael de Pinho Pinto** **Tratamento de efluentes da produção de queijo com elevada salinidade em reatores anaeróbios**

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



Dedico a todos que me apoiaram na realização deste trabalho.



## **o júri**

Presidente

Professora Doutora Ana Paula Duarte Gomes

Professora auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

Vogal  
(orientadora)

Professora Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais

Professora auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

Arguente

Professora Doutora Margarida Maria João de Quina

Professora auxiliar do Departamento de Engenharia Química da Universidade de Coimbra



## **agradecimentos**

A realização deste trabalho só foi possível com a ajuda e cooperação de algumas pessoas que cruzaram o meu caminho. Com muito gosto e gratidão manifesto os seguintes agradecimentos:

À minha orientadora, a Professora Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais, pela orientação prestada, pelas sugestões de trabalho, pelo conhecimento e pelos conselhos transmitidos.

À Cátia Sofia Pereira Couras, pela ajuda em alguns dos procedimentos laboratoriais, pelo esclarecimento de muitas dúvidas, pelo acompanhamento e pela disponibilidade revelada.

Ao Professor Luís Tarelho e à Ana Catarina Miranda Vilas Boas pela ajuda na produção do *biochar*.

À Catarina Correia pela ajuda e pelos esclarecimentos em alguns procedimentos experimentais.

À minha família e amigos, pelo apoio, amizade e paciência.



## palavras-chave

Efluentes líquidos; indústria de laticínios; soro de leite com elevada salinidade; tratamento anaeróbio; reator UASB.

## resumo

Neste trabalho procedeu-se ao estudo da biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade. Numa primeira fase, estudaram-se os sinergismos entre CQO, alcalinidade e SSV, e a influência de cada um destes parâmetros na digestão anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade em reatores descontínuos. Verificou-se que a remoção de CQO [gO<sub>2</sub>/L] e a produção de metano [mL] aumentam com a CQO aplicada, até determinado ponto (8,00 [gO<sub>2</sub>/L]), a partir do qual estas variáveis dependentes estagnam. Verificou-se também que à medida que a CQO aplicada aumenta, a relação do volume de metano gerado pelo volume de soro adicionado diminui. A alcalinidade revelou-se importante para as variáveis dependentes volume de metano gerado e fator metano/soro, visto que à medida que a CQO aplicada aumenta, deve-se aumentar a alcalinidade como forma de maximizar estas variáveis dependentes. Para a remoção da CQO [gO<sub>2</sub>/L], a alcalinidade não é tão importante como é para as outras variáveis dependentes. Os resultados revelaram que a concentração de SSV é importante para o volume de metano gerado e para o fator metano/soro, e praticamente irrelevante para a remoção da CQO, visto que para um dado valor de CQO aplicado, a remoção da CQO é próxima entre os valores SSV que compõem a gama. A concentração de SSV ótima para qualquer uma das variáveis dependentes é 10 g/L. Durante a segunda fase deste trabalho, repetiram-se os ensaios da 1ª fase que revelaram melhor performance (eficiência de remoção da CQO, eficiência de metanização, volume de metano gerado), com o intuito de estudar a adaptabilidade da biomassa. Verificou-se que não ocorreu adaptação da biomassa. Na terceira fase do trabalho experimental estudou-se a influência do *biochar* e da sua granulometria na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade em reatores descontínuos. Foram testadas duas granulometrias: <1,00 mm e 1,00 a 2,00 mm. O *biochar* estimulou o crescimento celular, a produção de metano e a eficiência de metanização. O reator com *biochar* de granulometria 1,00 a 2,00 mm produziu mais 74,85% e 59,91% de metano do que os dois reatores de controlo, enquanto que o reator com *biochar* de granulometria de <1,00 mm produziu mais 11,05 e 1,31%. Comparativamente às réplicas de controlo, o reator com *biochar* de 1,00 a 2,00 mm melhorou a eficiência de metanização em 7,44% e 4,55%, enquanto o reator com *biochar* <1,00mm melhorou em 8,17 e 5,28%. Por fim, estudou-se a viabilidade da digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores UASB com *biochar*. Comparativamente ao reator UASB sem *biochar*, o reator com *biochar* produziu mais metano, atingiu eficiências de metanização superiores e verificou-se uma maior produção e degradação de AOV. Esta tese demonstrou que a digestão anaeróbia de soro com elevada salinidade é um processo viável, especialmente na presença de *biochar*, contribuindo para uma mudança de paradigma na gestão de resíduos líquidos do subsector do queijo: em vez de descartar o soro, este pode ser convertido em energia sob a forma de metano.



**keywords**

Liquid waste; dairy industry; high salinity whey; anaerobic treatment; UASB reactor.

**abstract**

This work aimed to study the anaerobic biodegradability of high salinity whey. The first phase of the work focused on the study of the synergisms of COD, alkalinity concentration and SSV concentration, and the influence of each of these parameters on anaerobic digestion of high salinity whey in batch reactors. COD removal [ $\text{gO}_2/\text{L}$ ] and methane production [ $\text{mL}$ ] increased with the applied COD to a certain extent ( $8,00 \text{ gO}_2/\text{L}$ ) after which these dependent variables stagnate. Also, it has been found that as the COD increases, the ratio of methane produced per volume of whey decreases. Alkalinity proved to be important for the methane volume and methane/whey factor, since as the applied COD increases, the alkalinity should be increased as a way of maximizing these dependent variables. For COD removal [ $\text{gO}_2/\text{L}$ ], alkalinity is not as important as it is for the other dependent variables. The results showed that SSV is important for the methane generation and for the methane/whey factor, and practically irrelevant for COD removal, since for a given COD value, the COD removal is fairly constant within the range of SSV values. The optimal SSV concentration for any of the dependent variables is  $10,00 \text{ g/L}$ . During the second phase of this work, the first phase trials that showed better performance (COD removal efficiency [%], methanization efficiency [%], methane production [ $\text{mL}$ ]) were repeated in order to study the adaptability of biomass. It was found that the biomass did not adapt to high salinity whey. In the third phase of the experimental work, the influence of biochar and its particle size on the anaerobic biodegradability high salinity whey was studied in batch reactors. Two particle sizes were tested:  $<1,00 \text{ mm}$  and  $1,00 \text{ to } 2,00 \text{ mm}$ . Biochar stimulated cell growth, methane production and methanization efficiency. The  $1,00 \text{ to } 2,00 \text{ mm}$  particle size biochar reactor produced  $74,85\%$  and  $59,91\%$  more methane than the two control reactors, while the  $<1,00 \text{ mm}$  particle size biochar reactor produced plus  $11,05$  and  $1,31\%$ . Compared to control reactors, the  $1,00 \text{ to } 2,00 \text{ mm}$  biochar reactor improved methanization efficiency by  $7,44\%$  and  $4,55\%$ , while the  $<1,00 \text{ mm}$  biochar improved methanization by  $8,17$  and  $5,28\%$ . Finally, the viability of anaerobic digestion of high salinity whey in UASB reactors with *biochar* was studied. Compared to biochar-free UASB reactor, the biochar-UASB produced more methane, achieved higher methanization efficiencies, and higher AOV production and degradation. This thesis has shown that anaerobic digestion of high salinity whey is a viable process, especially in the presence of biochar, contributing to a paradigm shift in cheese subsector's liquid waste management: instead of discarding whey it can be converted in energy in the form of methane.



# Índice geral

Índice geral.....	XV
Índice de Figuras.....	XVIII
Índice de Tabelas.....	XXI
Lista de abreviaturas.....	XXIII
Nomenclatura química.....	XXIV
1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento.....	1
1.2. Revisão bibliográfica.....	3
1.2.1. Produção de queijo.....	3
1.2.1.1. Caracterização geral dos efluentes líquidos da produção de queijo... 6	
1.2.1.2. Subsetor da produção de queijo Português.....	11
1.2.2. Digestão anaeróbia.....	12
1.2.2.1. Fases da digestão anaeróbia.....	14
1.2.2.2. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia.....	18
1.2.2.3. Digestão anaeróbia de efluentes salinos.....	23
1.2.3. Reator anaeróbio de leito de lamas e fluxo ascendente (UASB).....	25
1.2.3.1. Reatores UASB no tratamento de soro de queijo.....	30
1.2.4. Caracterização geral do biochar.....	33
1.2.4.1. Utilização de <i>biochar</i> no tratamento de efluentes líquidos.....	33
1.3. Motivações e objetivos.....	35
2. Materiais e métodos.....	37
2.1. Caracterização do inóculo.....	37
2.2. Caracterização do substrato.....	38
2.3. Caracterização do <i>biochar</i> .....	38
2.4. Instalação experimental.....	40
2.4.1. Reatores descontínuos.....	40
2.4.2. Reatores UASB.....	41
2.5. Condições de operação.....	43
2.5.1. 1ª fase – Sinergismos entre a carga orgânica, SSV e alcalinidade.....	43
2.5.2. 2ª fase – Adaptabilidade da biomassa.....	46
2.5.3. 3ª fase – Influência do biochar e da sua granulometria.....	46
2.5.4. 4ª fase – Viabilidade dos reatores UASB.....	47
2.6. Parâmetros de monitorização físico-químicos.....	49
2.6.1. pH e condutividade.....	49
2.6.2. Sólidos suspensos totais (SST) e Sólidos suspensos voláteis (SSV).....	50
2.6.3. Carência química de oxigénio (CQO).....	51
2.6.4. Ácidos orgânicos voláteis (AOV).....	52
2.6.5. Composição do biogás.....	53
2.7. Cálculos efetuados no tratamento de dados.....	55
2.7.1. Reatores descontínuos.....	55
2.7.1.1. Preparação da alimentação.....	55
2.7.1.2. CQO removida.....	56
2.7.1.3. Eficiência de metanização.....	57
2.7.2. Reatores UASB.....	58

2.7.2.1. Preparação da alimentação .....	58
2.7.2.2. Tempo de retenção hidráulico (TRH) .....	59
2.7.2.3. Carga orgânica volúmica (Bv) .....	59
2.7.2.4. Velocidade ascensional .....	60
2.7.2.5. CQO removida .....	60
2.7.2.6. Eficiência de metanização .....	61
3. Resultados.....	63
3.1. 1ª fase – Sinergismos entre a carga orgânica, SSV e alcalinidade .....	63
3.1.1. Carência química de oxigénio total (CQO <sub>total</sub> ) e solúvel (CQO <sub>solúvel</sub> ) ...	64
3.1.2. pH .....	65
3.1.3. Condutividade .....	67
3.1.4. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV)...	68
3.1.5. Ácidos orgânicos voláteis (AOV) .....	70
3.1.6. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	71
3.1.6.1. Produção de metano.....	71
3.1.6.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	72
3.1.7. Superfícies de resposta.....	74
3.1.7.1. Volume de metano.....	78
3.1.7.2. Remoção da CQO .....	82
3.1.7.3. Fator metano/soro.....	86
3.2. 2ª fase – Adaptabilidade da biomassa.....	89
3.2.1. Carência química de oxigénio total (CQO <sub>total</sub> ) e solúvel (CQO <sub>solúvel</sub> ) ...	90
3.2.2. pH .....	91
3.2.3. Condutividade .....	92
3.2.4. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV)...	94
3.2.5. Ácidos orgânicos voláteis (AOV) .....	96
3.2.6. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	97
3.2.6.1. Produção de metano.....	97
3.2.6.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	98
3.3. 3ª fase – Influência do <i>biochar</i> e da sua granulometria .....	100
3.3.1. Carência química de oxigénio total (CQO <sub>total</sub> ) e solúvel (CQO <sub>solúvel</sub> ) ..	101
3.3.2. pH .....	102
3.3.3. Condutividade .....	103
3.3.4. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV).	104
3.3.5. Ácidos orgânicos voláteis (AOV) .....	105
3.3.6. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	106
3.3.6.1. Produção de metano.....	106
3.3.6.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	107
3.4. 4ª fase - Reatores UASB .....	109
3.4.1. Carência química de oxigénio total (CQO <sub>total</sub> ) e solúvel (CQO <sub>solúvel</sub> ) da alimentação .....	110
3.4.2. Carência química de oxigénio total (CQO <sub>total</sub> ) e solúvel (CQO <sub>solúvel</sub> ) do efluente tratado.....	111
3.4.3. pH da alimentação e do efluente tratado.....	113
3.4.4. Condutividade da alimentação e do efluente tratado .....	114
3.4.5. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) do efluente tratado.....	116
3.4.6. Ácidos orgânicos voláteis (AOV) do efluente tratado .....	118

3.4.7.	Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização.....	119
3.4.7.1.	Produção de metano .....	119
3.4.7.2.	Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização .....	120
4.	Conclusões.....	123
4.1.	1ª fase – Sinergismos entre a carga orgânica, SSV e alcalinidade .....	123
4.2.	2ª fase – Adaptabilidade da biomassa .....	123
4.3.	3ª fase – Influência do <i>biochar</i> e da sua granulometria.....	124
4.4.	4ª fase - Reatores UASB.....	124
5.	Sugestões de trabalho futuro .....	125
6.	Referência bibliográficas .....	127
7.	Anexos .....	139
7.1.	Características dos reatores UASB.....	139
7.2.	Calibração das bombas peristálticas.....	139
7.3.	Preparação da solução de alcalinidade.....	140
7.4.	Preparação das soluções de macro e micronutrientes.....	140
7.5.	Preparação das soluções para a análise da CQO.....	141
7.6.	Tempos de retenção e retas de calibração associados a cada AOV .....	141
7.7.	<i>Theoretical Oxygen Demand</i> (TOD).....	142
7.8.	Carência química de oxigênio (CQO) total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.....	142
7.9.	Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase .....	143
7.10.	CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos	144
7.11.	Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 2ª fase e dos ensaios descontínuos da 1ª fase que foram repetidos .....	144

# Índice de Figuras

<b>Figura 1.1-</b> Balanços mássicos para os processos de digestão aeróbia (a) e digestão anaeróbia (b) (adaptado de van Lier, Mahmoud e Zeeman, 2008).....	2
<b>Figura 1.2-</b> Evolução do consumo e da produção de queijo em Portugal, desde 2013 a 2017 (INE, 2018a, 2018b).....	11
<b>Figura 1.3-</b> Peso relativo dos tipos de queijos produzidos em Portugal entre 2013 e 2017 (INE, 2018b).....	12
<b>Figura 1.4-</b> Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de Van Haandel <i>et al.</i> , 1999; Demirel and Scherer, 2008).....	14
<b>Figura 1.5-</b> Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB típico.....	26
<b>Figura 2.1-</b> Esquema da instalação experimental de produção de <i>biochar</i> .....	38
<b>Figura 2.2-</b> Fotografia de um reator descontínuo utilizado no trabalho experimental.....	40
<b>Figura 2.3-</b> Fotografia da montagem experimental dos reatores descontínuos.....	40
<b>Figura 2.4-</b> Esquema dos reatores UASB utilizados no trabalho experimental.....	41
<b>Figura 2.5-</b> Esquema da montagem experimental dos reatores UASB.....	42
<b>Figura 3.1-</b> CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental.....	64
<b>Figura 3.2-</b> pH experimental no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da 1ª fase do trabalho.....	65
<b>Figura 3.3-</b> Condutividade no início e no final do período de incubação dos ensaios da 1ª fase.....	67
<b>Figura 3.4-</b> Teor de sólidos suspensos totais (SST) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental.....	68
<b>Figura 3.5-</b> Sólidos suspensos voláteis (SSV) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental.....	69
<b>Figura 3.6-</b> Peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.....	70
<b>Figura 3.7-</b> Volume de metano produzido pelos ensaios descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.....	71
<b>Figura 3.8-</b> Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase.....	72
<b>Figura 3.9-</b> Eficiência de metanização dos reatores da primeira fase do trabalho experimental.....	73
<b>Figura 3.10-</b> Diagrama de Pareto das variáveis de influência estudadas para o volume de metano gerado.....	76
<b>Figura 3.11-</b> Diagrama de Pareto das variáveis de influência estudadas para a remoção de CQO total.....	76
<b>Figura 3.12-</b> Diagrama de Pareto das variáveis de influência estudadas para o fator metano/soro.....	77

<b>Figura 3.13-</b> Representação gráfica da relação entre os valores experimentais observados e os valores previstos de metano gerado.....	78
<b>Figura 3.14-</b> Representação gráfica da relação entre os resíduos brutos observados e previstos do volume de metano gerado para cada ensaio.....	79
<b>Figura 3.15-</b> Superfícies de resposta para o volume de metano gerado [L] em função da CQO e SSV(a), da Alcalinidade e CQO(b) e Alcalinidade e SSV(c).....	80
<b>Figura 3.16-</b> Representação gráfica da relação entre os valores experimentais observados e os valores previstos da remoção da CQO.....	82
<b>Figura 3.17-</b> Representação gráfica da relação entre os resíduos brutos observados e previstos da remoção da CQO para cada ensaio gerado.....	83
<b>Figura 3.18-</b> Superfícies de resposta para a remoção da CQO [gO <sub>2</sub> /L] em função da CQO e SSV (a), da Alcalinidade e CQO (b) e Alcalinidade e SSV (c).....	84
<b>Figura 3.19-</b> Representação gráfica da relação entre os valores experimentais observados e os valores previstos do fator metano/soro.....	86
<b>Figura 3.20-</b> Representação gráfica da relação entre os resíduos brutos observados e previstos do fator metano/soro para cada ensaio gerado.....	87
<b>Figura 3.21-</b> Superfícies de resposta para o fator metano/soro em função da CQO e SSV (a), da Alcalinidade e CQO (b) e Alcalinidade e SSV (c).....	88
<b>Figura 3.22-</b> CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	90
<b>Figura 3.23-</b> pH no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	91
<b>Figura 3.24-</b> Condutividade no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos....	92
<b>Figura 3.25-</b> Sólidos suspensos totais (SST) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	94
<b>Figura 3.26-</b> Sólidos suspensos voláteis (SSV) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	95
<b>Figura 3.27-</b> Peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	96
<b>Figura 3.28-</b> Volume de metano gerado pelos reatores descontínuos da 2ª fase e pelos reatores da 1ª fase que foram repetidos.....	97
<b>Figura 3.29-</b> Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	98
<b>Figura 3.30-</b> Eficiência de metanização dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos reatores da 1ª fase que foram repetidos.....	99
<b>Figura 3.31-</b> CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase.....	101
<b>Figura 3.32-</b> pH no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase.....	102
<b>Figura 3.33-</b> Condutividade no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase.....	103

<b>Figura 3.34-</b> Concentração de sólidos suspensos totais (SST) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.....	104
<b>Figura 3.35-</b> Concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental. ....	104
<b>Figura 3.36-</b> Peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.....	105
<b>Figura 3.37-</b> Volume cumulativo de metano dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.....	106
<b>Figura 3.38-</b> Valores da eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.....	107
<b>Figura 3.39-</b> Eficiência de metanização dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.....	108
<b>Figura 3.40-</b> Perfil da evolução da CQO total do efluente tratado ao longo dos ciclos.....	111
<b>Figura 3.41-</b> Perfil da evolução da CQO solúvel do efluente tratado ao longo dos ciclos. ....	111
<b>Figura 3.42-</b> Evolução do pH do efluente tratado dos reatores UASB.....	114
<b>Figura 3.43-</b> Perfil da evolução da condutividade do efluente tratado dos reatores UASB.....	115
<b>Figura 3.44-</b> Perfil da evolução da concentração de SST do efluente tratado.....	117
<b>Figura 3.45-</b> Perfil da evolução da concentração de SSV do efluente tratado.....	117
<b>Figura 3.46-</b> Perfil da evolução da concentração de AOV (mg acético/L) no efluente tratado dos reatores UASB.....	119
<b>Figura 3.47-</b> Perfil do volume cumulativo de metano gerado pelos reatores UASB.....	120
<b>Figura 3.48-</b> Perfil da evolução da eficiência de remoção da CQO dos ciclos em reatores UASB.....	121
<b>Figura 3.49-</b> Perfil da evolução da eficiência de metanização dos ciclos em reatores UASB.....	122
<b>Figura 7.1-</b> Retas de calibração das bombas peristáltica.....	139

# Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.1-</b> Produção de queijo por continente, no ano de 2011 (FAOSTAT, 2014).....	4
<b>Tabela 1.2-</b> Taxa de efluentes líquidos gerados pela massa de queijo produzido.....	6
<b>Tabela 1.3-</b> Parâmetros físico-químicos de efluentes líquidos do subsetor do queijo.....	7
<b>Tabela 1.4-</b> Parâmetros físico-químicos do soro de leite.....	10
<b>Tabela 1.5-</b> Gamas de temperaturas ideais para o crescimento de microrganismos anaeróbios (Gerardi, 2003).....	19
<b>Tabela 1.6-</b> Necessidades nutricionais da digestão anaeróbia (Gerardi, 2003).....	21
<b>Tabela 1.7-</b> Categorias de microrganismos de acordo com a gama de NaCl para crescimento ótimo (Lay, Liu and Fane, 2010).....	24
<b>Tabela 1.8-</b> Concentrações ótimas, inibitórias e severamente inibitórias do sódio, potássio, cálcio e magnésio na digestão anaeróbia (Mohee and Mudhoo, 2012)....	24
<b>Tabela 1.9-</b> Parâmetros de operação de reatores UASB usados no tratamento de soro de leite.....	30
<b>Tabela 2.1-</b> Caracterização das lamas anaeróbias utilizadas no trabalho experimental (média±desvio padrão).....	37
<b>Tabela 2.2-</b> Caracterização do substrato utilizado no trabalho experimental (média±desvio padrão).....	38
<b>Tabela 2.3-</b> Características do <i>biochar</i> produzido.....	39
<b>Tabela 2.4-</b> Matriz de delineamento dos ensaios descontínuos da 1ª fase.....	44
<b>Tabela 2.5-</b> Matriz operacional da bateria de ensaios da 1ª fase do trabalho experimental.....	45
<b>Tabela 2.6-</b> Matriz operacional da bateria de ensaios da 1ª fase do trabalho experimental.....	45
<b>Tabela 2.7-</b> Matriz operacional da bateria dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.....	47
<b>Tabela 2.8-</b> Matriz operacional da bateria dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.....	47
<b>Tabela 2.9-</b> Condições de operação dos reatores UASB.....	48
<b>Tabela 2.10-</b> Constituição das alimentações dos reatores UASB.....	49
<b>Tabela 2.11-</b> Parâmetros de operação do cromatógrafo PerkinElmer® Clarus 480.....	52
<b>Tabela 2.12-</b> Parâmetros de operação do cromatógrafo SRI® 8610C.....	53
<b>Tabela 3.1-</b> Variáveis de interesse e de resposta.....	74
<b>Tabela 3.2-</b> Estimativa dos efeitos para o volume de metano.....	75
<b>Tabela 3.3-</b> Estimativa dos efeitos para a remoção da CQO total.....	75
<b>Tabela 3.4-</b> Estimativa dos efeitos para o fator metano/soro.....	75
<b>Tabela 3.5-</b> CQO total e solúvel da alimentação dos ensaios realizados nos reatores UASB.....	110
<b>Tabela 3.6-</b> pH da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB.....	113

<b>Tabela 3.7-</b> Condutividade da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB.....	115
<b>Tabela 7.1-</b> Características dos reatores UASB.....	139
<b>Tabela 7.2-</b> Tempos de retenção e retas de calibração associados a cada AOV.....	141
<b>Tabela 7.3-</b> TOD para cada AOV.....	142
<b>Tabela 7.4-</b> CQO total e de CQO solúvel dos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental no início e no final do período de incubação.....	142
<b>Tabela 7.5-</b> Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase.....	143
<b>Tabela 7.6-</b> CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.....	144
<b>Tabela 7.7-</b> Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 2ª fase e dos ensaios descontínuos da 1ª fase que foram repetidos.....	144

## Lista de abreviaturas

- AGCL** Ácidos gordos de cadeia longa  
**AOV** Ácidos orgânicos voláteis  
**Bv** Carga orgânica volúmica  
**CBO<sub>5</sub>** Carência bioquímica de oxigénio (5 dias)  
**CQO** Carência química de oxigénio  
**CSTR** Reator continuamente agitado, *Continuously stirred tank reactor*  
**DCCR** Delineamento composto centro rotacional  
**EDTA** Ácido etilenodiamino tetra-acético  
**ETAR** Estação de tratamento de águas residuais  
**EUA** Estados Unidos da América  
**FISH** *Fluorescence In Situ Hybridization*  
**GSL** Separador gás-sólido-líquido  
**PBS** Solução tampão fosfato-salino  
**PFA** Paraformaldeído  
**SIMRIA** Saneamento Integrado dos Municípios da RIA  
**SST** Sólidos suspensos totais  
**SSV** Sólidos suspensos voláteis  
**TOD** Theoretical Oxygen Demand  
**TRH** Tempo de retenção hidráulico  
**TRS** Tempo de retenção de sólidos  
**UASB** Reator anaeróbio de leito de lamas e fluxo ascendente, *Upflow anaerobic sludge blanket*

## Nomenclatura química

**(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O** Molibdato de amónio tetra-hidratado

**Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** Sulfato de prata

**CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O** Cloreto de cálcio di-hidratado

**CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O** Cloreto de cobalto hexa-hidratado

**CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O** Cloreto de cobre di-hidratado

**FeCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O** Cloreto de ferro hexa-hidratado

**H<sub>2</sub>S** Ácido Sulfídrico

**H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>** Ácido bórico

**HgSO<sub>4</sub>** Sulfato de mercúrio

**K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>** Dicromato de potássio

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** Fosfato monopotássico

**KHCO<sub>3</sub>** Bicarbonato de potássio

**MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O** Sulfato de magnésio hepta-hidratado

**MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O** Cloreto de manganês tetra-hidratado

**Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O** Selenito de sódio penta-hidratado

**NaCl** Cloreto de sódio

**NaHCO<sub>3</sub>** Bicarbonato de sódio

**NH<sub>4</sub>Cl** Cloreto de amónio

**NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O** Cloreto de níquel hexa-hidratado

**ZnCl<sub>2</sub>** Cloreto de zinco

# 1. Introdução

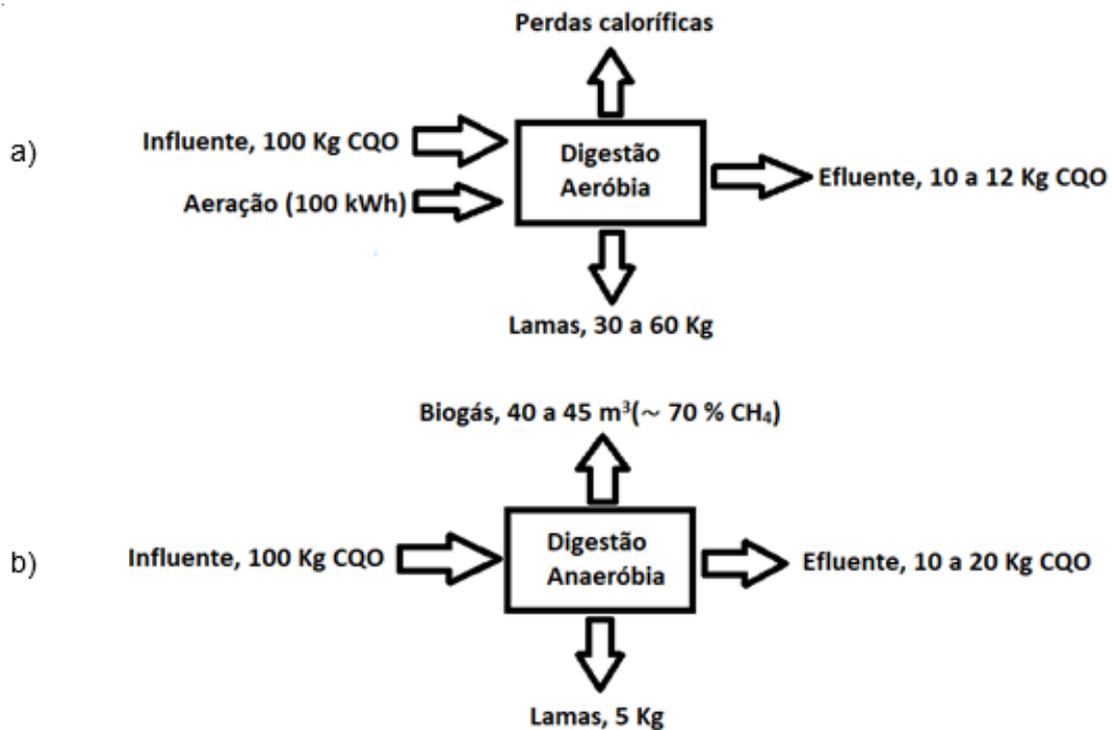
## 1.1. Enquadramento

A poluição causada pelas indústrias de laticínios tem gerado preocupação, sobretudo a indústria da produção de queijo devido ao elevado consumo de água e à geração de uma grande quantidade de resíduos. O tratamento dos efluentes líquidos gerados nesta atividade industrial representa um dos aspetos mais críticos da gestão de resíduos do subsetor, devido ao elevado potencial poluidor dos subprodutos líquidos gerados na produção de queijo, sobretudo o soro de leite.

Nos últimos anos tem-se verificado uma crescente preocupação com o meio ambiente. A sociedade em geral tem-se mostrado cada vez mais consciencializada sobre o estado do planeta e as questões relacionadas com a sustentabilidade têm assumido um lugar de destaque na agenda política e científica. As normas impostas pelas autoridades ambientais são cada vez mais restritivas e as empresas sentem uma necessidade crescente de reduzirem os seus impactos ambientais, para corresponderem às normas impostas e como forma de melhorarem a sua imagem perante a sociedade. Nesse sentido, tem-se realizado um esforço para diminuir e tratar mais eficazmente os efluentes líquidos gerados pelas indústrias.

As diferentes indústrias produzem diferentes tipos de efluentes líquidos, cujas soluções de tratamento adotadas dependem das características químicas e físicas dos efluentes e da legislação que rege os requisitos mínimos para a descarga do efluente tratado nos meios recetores. O tratamento aplicado aos efluentes líquidos industriais pode assentar em operações de cariz químico, físico e biológico. O tratamento biológico é amplamente aplicado em efluentes industriais e pode ser classificado em digestão aeróbia ou digestão anaeróbia. Digestão aeróbia consiste na degradação da matéria orgânica decomponível através da ação de microrganismos na presença de oxigénio, enquanto que digestão anaeróbia se traduz na degradação da matéria orgânica decomponível em, maioritariamente, CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> através da ação de microrganismos na ausência de oxigénio.

Na Figura 1.1 estão apresentados os esquemas dos balanços mássicos para a digestão aeróbia e para a digestão anaeróbia.



**Figura 1.1-** Fluxos mássicos e energéticos para os processos de digestão aeróbia (a) e digestão anaeróbia (b) (adaptado de van Lier, Mahmoud e Zeeman, 2008).

A digestão anaeróbia oferece várias vantagens face à digestão aeróbia. As vantagens da digestão anaeróbia face à digestão aeróbia, tradicionalmente referidas na literatura, estão enumeradas a seguir (Seghezzeo *et al.*, 1998):

- Podem ser alcançadas elevadas eficiências de remoção, mesmo com cargas orgânicas elevadas e a baixas temperaturas;
- A construção e a operação dos reatores anaeróbios são relativamente simples;
- A digestão anaeróbia pode ser aplicada tanto em pequena como em grande escala;
- A exigência em termos de volume dos reatores anaeróbios é menor, visto que é possível operar com cargas orgânicas elevadas;
- Como não é necessária energia para arejamento, o consumo de energia é baixo. Aliás, é produzida energia sob a forma de metano;

- Baixa produção de lamas, o que torna os custos associados ao tratamento das lamas finais mais reduzido;
- Baixa exigência nutricional. Geralmente, o substrato possui nutrientes suficientes para o bom desempenho do processo.

(van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008) apontam outras vantagens da digestão anaeróbia face à digestão aeróbia, nomeadamente:

- Os microrganismos anaeróbios possuem a capacidade de entrar em funcionamento após longos períodos sem alimentação;
- Os reatores anaeróbios possuem a capacidade de se acostumarem a condições adversas, nomeadamente baixas temperaturas e à presença de compostos de caráter tóxico e inibidor.

No entanto, a digestão anaeróbia apresenta desvantagens. (Seghezzeo *et al.*, 1998) relatou as seguintes:

- Baixa remoção de patogénicos e nutrientes, o que torna necessário a existência de pós tratamento para a sua remoção;
- Quando existem elevadas concentrações de sulfatos no substrato pode-se formar sulfureto de hidrogénio, o que confere um mau odor ao biogás;
- A entrada em funcionamento pode ser demorada se não for utilizado inóculo de boa qualidade.

## **1.2. Revisão bibliográfica**

### **1.2.1. Produção de queijo**

O queijo é um produto macio, semiduro, duro ou extra duro, curado ou não, que pode ser revestido e no qual a relação entre a proteína do soro de leite e a caseína não exceda a do leite, obtido (FAO, 1978):

- Por coagulação parcial ou total das proteínas do leite, do leite desnatado, do leite parcialmente desnatado, da nata, do soro de leite, ou qualquer combinação destes, através da ação do coalho ou de outro coagulante, e da drenagem parcial do soro de leite, respeitando o princípio de que a produção

de queijo resulta numa concentração das proteínas do leite, levando a que o teor proteico do queijo seja superior ao nível proteico da misturas de ingredientes.

- Através de técnicas que promovam a coagulação das proteínas do leite e/ou dos derivados do leite que forneçam um produto final com características físicas, químicas e organolépticas semelhantes às referidas no ponto anterior.

É geralmente aceite que o queijo surgiu no Iraque, na atual geografia, antes os rios Tigres e Eufrates, há cerca de 8 000 anos atrás, coincidindo com a altura em que se iniciou a domesticação de animais (Fox *et al.*, 2017). A produção de queijo era maioritariamente caseira até ao final do século XIX. Desde então, tem se verificado um desenvolvimento progressivo da tecnologia, e o aparecimento de instalações industriais cada vez maiores que têm assegurado a maior parte da produção de queijo (Bennett and Johnston, 2004). Paralelamente, tem ocorrido um ressurgimento de muitos pequenos fabricantes de queijo (Bennett and Johnston, 2004).

O queijo é um alimento muito apreciado no mundo inteiro. Em 2011 a produção mundial deste derivado do leite foi cerca de 20 424 000 toneladas (FAOSTAT, 2014), sendo que mais de metade da produção mundial de queijo foi assegurada pelo continente Europeu, como se pode constatar através da Tabela 1.1.

**Tabela 1.1-** Produção de queijo por continente, no ano de 2011 (FAOSTAT, 2014).

Continente	Europa	América (Norte e Central; Sul)	Ásia	África	Oceânia	Total
Produção [toneladas]	10 217 000	5 817 000; 1 680 000	1 223 000	837 000	650 000	20 424 000

Da análise da Tabela 1.1 pode-se também constatar que o continente Americano surge como o segundo maior produtor de queijo mundial, seguido pela Ásia, África e, finalmente, a Oceânia.

Existe uma grande variedade de queijos com diferentes características de sabor, textura e tempos de conservação (INETI, 2001), derivada das propriedades do leite utilizado e das características das etapas do processo de produção do queijo (Jacinto, Carvalho and Furtado, 2009). No entanto, grande parte das etapas do processo de fabrico são comuns para os diferentes tipos de queijo (INETI, 2001).

Em geral, o processo de fabrico de queijo compreende as seguintes etapas (INETI, 2001):

- Tratamento do leite – O tratamento do leite compreende a clarificação, normalização e pasteurização do leite. A clarificação consiste na remoção das partículas em suspensão existentes no leite. A normalização traduz-se na desnatação ou na adição de nata ao leite até este atingir o nível requerido de gordura (Jacinto, Carvalho and Furtado, 2009). Quanto à pasteurização, trata-se de um processo em que se aquece o leite, por norma, a 72-73°C durante 15 a 20 segundos, com o objetivo de eliminar bactérias patogénicas e bactérias deterioradoras do leite;
- Coagulação – Nesta etapa do processo é adicionado o coagulante ao leite a uma temperatura compreendida entre 32 e 35°C enquanto se agita o leite durante 2 a 3 minutos. De seguida, o leite é deixado em repouso entre 30 a 40 minutos. Durante este período ocorre a coagulação da caseína do leite formando um sólido com a aparência de um gel, denominado de coalhada. Quando a coalhada atinge o ponto, esta é cortada formando pequenos pedaços. A seguir ao corte a mistura é agitada suavemente e é drenado o soro de leite;
- Moldagem/Prensagem – A coalhada é transferida para moldes com formas e tamanhos específicos e prensada para que o resto do soro de leite na mistura seja expulsa;
- Desmoldagem – Os queijos são retirados dos moldes;
- Salga – A salga pode ser realizada por meio de diversas formas:
  - Através da aplicação direta de sal aos queijos. Os queijos são esfregados com sal em toda a sua superfície (Dgadr, 2009);
  - Através da submersão dos queijos em tanques com salmoura;
  - Através da adição de sal ao leite (Dgadr, 2009) ou à coalhada – estas formas de salga ocorrem numa fase mais primária do processo.
- Cura – Por fim, os queijos são mantidos em condições de temperatura e humidade específicos, enquanto ocorrem numerosas modificações microbiológicas, bioquímicas, físicas e químicas.

### 1.2.1.1. Caracterização geral dos efluentes líquidos da produção de queijo

O subsetor da produção de queijo é um dos maiores produtores de efluentes líquidos da indústria de laticínios (INETI, 2001). As principais fontes de efluentes líquidos na produção de queijo são (Mendes and Mendonça, 2013):

- Soro de leite;
- Leite, sólidos de leite, gorduras e restos de produto final que permanece nas tubagens, bombas, tanques, cubas e equipamentos;
- Águas de lavagem, resultantes da limpeza de tanques no cais de receção do leite, das instalações, dos equipamentos e dos utensílios;
- Detergentes e desinfetantes usados nas operações de lavagem;
- Lubrificantes utilizados na manutenção dos equipamentos;

As características físicas e químicas dos efluentes líquidos gerados pelas instalações de produção de queijo variam com o tipo de queijo produzido, as técnicas de produção e as quantidades de leite usadas (Danalewich *et al.*, 1998). Elevadas variações sazonais nas características dos efluentes também são encontradas com frequência neste tipo de indústria e estão relacionadas com o volume de leite disponível para a produção de queijo (Danalewich *et al.*, 1998).

Apenas foi encontrado um estudo que providencia informação extensiva sobre características particulares de indústrias de produção de queijo de várias escalas (Danalewich *et al.*, 1998). Através dos dados recolhidos por (Danalewich *et al.*, 1998) relativamente a alguns parâmetros físicos dos efluentes líquidos gerados por 15 queijarias situadas nos EUA, determinou-se a taxa de geração de efluentes líquidos pela massa de queijo produzido (Tabela 1.2).

**Tabela 1.2-** Taxa de efluentes líquidos gerados pela massa de queijo produzido.

Parâmetro	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Coefficiente [L efluentes gerados/Kg queijo produzido]	13,70	5,41	6,99	24,14

Portanto, em média, são gerados 13,70 litros de efluentes líquidos por cada quilograma de queijo produzido (Tabela 1.2).

A Tabela 1.3 resume os dados, obtidos a partir da literatura, dos principais parâmetros físico-químicos de efluentes líquidos do subsetor da produção de queijo.

**Tabela 1.3-** Parâmetros físico-químicos de efluentes líquidos do subsetor do queijo.

Parâmetro	CQO [mgO <sub>2</sub> /L]	CBO <sub>5</sub> [mgO <sub>2</sub> /L]	SST [mg/L]	Óleos e gorduras [mg/L]	Azoto total [mg/L]	Fósforo total [mg/L]	pH	Condutividade [ms/cm]
Média	3 060	1 837	1 701	359	334	86	6,64	--
Desvio padrão	941	605	1 065	140	395	104	1,19	--
Mínimo	1 609	957	87	263	36	21	4,70	--
Máximo	4 500	2 300	2 750	520	830	280	7,90	--
Referências utilizadas	(a); (b); (c); (e); (f); (g).	(a); (b); (e); (f); (g).	(a); (b); (c); (d); (e); (f); (g).	(a); (f); (g).	(a); (d); (e); (g).	(a); (c); (d); (e); (g).	(a); (b); (d); (e); (f); (g).	--

Referências: (a)Gutierrez, 1991; (b)Monroy *et al.*, 1995; (c)Rusten, Siljudalen and Strand, 1996; (d)Gavala *et al.*, 1999; (e)Koyuncu *et al.*, 2000; (f)Venkatraman and Achi, 2004; (g)Tawfik, Sobhey and Badawy, 2008.

Considera-se que os efluentes do subsetor do queijo apresentam uma carga orgânica média a elevada, devendo-se, principalmente, à presença de soro de leite na sua constituição (Kushwaha, Srivastava and Mall, 2011).

Este tipo de efluentes apresentam na sua constituição açúcares (sobretudo lactose), proteínas (principalmente caseína) e lípidos (sobretudo triglicerídeos) (Vidal *et al.*, 2000). Os sistemas de tratamento biológicos podem ser vulneráveis a este tipo de efluentes, porque a proporção dos compostos referidos anteriormente pode ser muito variada (Danalewich *et al.*, 1998), ainda que facilmente biodegradáveis, pois a razão CBO<sub>5</sub>/CQO, normalmente, é superior a 0,5 (Prazeres, Carvalho and Rivas, 2012).

A presença de nutrientes nos efluentes do subsetor do queijo tem origem principalmente nos produtos de limpeza utilizados e nas proteínas do leite (Danalewich *et al.*, 1998). Os nutrientes podem se encontrar numa forma orgânica: proteínas, ureia, peptídeos (azoto), fosfolípidos (fósforo); e numa forma inorgânica: NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (azoto), PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (fósforo) (Danalewich *et al.*, 1998).

Estes efluentes podem conter também AOV, potássio, sódio, cálcio, magnésio, alumínio, manganês, níquel, cobre, cobalto e ferro (Danalewich *et al.*, 1998).

Os sólidos suspensos presentes neste tipo de efluentes devem-se, maioritariamente, à presença de leite coagulado e pedaços de queijo.

A utilização de produtos de limpeza faz variar o pH dos efluentes, no entanto, por norma, o pH é neutro a alcalino (Danalewich *et al.*, 1998).

Nos últimos anos, tem-se verificado um investimento no tratamento das águas residuais geradas pelas indústrias da produção do queijo, resultado do acréscimo da consciência ambiental por parte das empresas e das normas cada vez mais restritivas impostas pelas autoridades ambientais. No entanto, estima-se que 80% das queijarias ainda têm problemas no tratamento dos seus resíduos líquidos (Sharma and Pathak, 2018). Os efluentes líquidos das queijarias são normalmente tratados através de métodos biológicos, tais como, lamas ativadas, lagoas arejadas, filtros biológicos, reatores SBR, reatores UASB, filtros anaeróbios, entre outros, e também através de métodos físico-químicos como forma de pós-tratamento, nomeadamente, coagulação e floculação através de coagulantes inorgânicos e orgânicos naturais, nano filtração e osmose reversa (Shete and Shinkar, 2013).

#### **1.2.1.1.1. Soro de leite**

O soro de leite é um líquido de cor turva amarelada resultante do fabrico do queijo ou da caseína através da ação dos ácidos, do coalho e/ou de processos físico-químicos (INE, 2017). Dependendo do processo adotado na produção do queijo, o soro pode pertencer a um de dois grupos: soro ácido (pH inferior a 5) e soro doce (pH superior a 5) (De Wit, 2001). O soro doce é obtido através da coagulação da caseína induzida por coalho, e o soro ácido resulta da ação de ácidos ou minerais para coagular a caseína (De Wit, 2001).

O soro é um dos efluentes líquidos mais poluentes entre todos os efluentes do setor dos laticínios, dado que contém uma enorme quantidade de matéria orgânica biodegradável (Kabbout *et al.*, 2011), o que pode causar um elevado consumo de oxigénio se for descartado diretamente em massas de água (Rico *et al.*, 2015). Para além disso, também pode causar eutrofização, devido às concentrações relativamente elevadas de azoto e fósforo, impermeabilização

graças à gordura presente, e toxicidade nas massas de água (Prazeres, Carvalho and Rivas, 2012).

O soro representa cerca de 85-95% do volume do leite e retém 55% dos nutrientes do leite (Siso, 1996). Na sua composição, o soro apresenta 95% (v/v) de água, 5-8% (v/v) de matéria seca, dos quais cerca de 60-80% é lactose, 10-20% são proteínas e o resto são minerais, vitaminas, gorduras, ácido láctico e elementos vestigiais (Koutinas *et al.*, 2009). O peso relativo dos componentes do soro pode variar com o tipo de queijo produzido e com o tipo de leite utilizado (Siso, 1996).

Cerca de 90% da matéria orgânica do soro deve-se à lactose, e os restantes 10% correspondem sobretudo a proteínas e gorduras (Silva, 2013). Os compostos que compõem o soro são facilmente biodegradáveis, visto que o rácio CBO<sub>5</sub>/CQO, geralmente, é superior a 0,5 (Prazeres, Carvalho and Rivas, 2012).

O soro também contém quantidades consideráveis de ácido láctico, ácido cítrico, vitaminas do grupo B (Siso, 1996; Panesar *et al.*, 2007; Koutinas *et al.*, 2009) e metais pesados em pequenas concentrações, nomeadamente: cádmio, crómio, cobre, chumbo, mercúrio, zinco e alumínio (Cimino and Caristi, 1990; Ayar, Sert and Akin, 2009).

O soro também pode apresentar sais minerais na sua constituição, quando a salga é efetuada através da adição de sal ao leite ou à coalhada. Os sais minerais presentes no soro podem representar até 8 a 10% da massa seca do soro, sendo os mais comuns NaCl e KCl (mais de 50%), sais de cálcio, entre outros (Venetsaneas *et al.*, 2009).

A Tabela 1.4 resume os dados, obtidos a partir da literatura, dos principais parâmetros físico-químicos do soro de leite.

**Tabela 1.4-** Parâmetros físico-químicos do soro de leite.

Parâmetro	CQO [mgO <sub>2</sub> /L]	CBO <sub>5</sub> [mgO <sub>2</sub> /L]	SST [mg/L]	Óleos e gorduras [mg/L]	Azoto total [mg/L]	Fósforo total [mg/L]	pH	Condutividade [mS/cm]
Média	59 932	30 760	32 630	2 138	1 350	423	4,73	25,55
Desvio padrão	19 532	19 561	27 264	1 661	1 040	247	1,24	25,39
Mínimo	11 210	5 135	1 300	500	146	124	3,30	7,60
Máximo	85 000	56 667	72 000	4 000	3 050	705	6,50	43,50
Referências utilizadas	(a); (b); (c); (d); (e); (f); (h); (i); (j); (l); (m); (n); (o).	(g); (i); (j); (l).	(a); (b); (c); (d); (e); (f); (g); (h); (j); (l); (m); (o).	(d); (g); (h); (j).	(a); (b); (c); (d); (f); (h); (j); (m); (o).	(a); (b); (c); (f); (h).	(b); (d); (f); (h); (i); (j); (o).	(n).

Referências: (a)Berg and Kennedy, 1985; (b)Yan, Lo and Liao, 1989; (c)Malaspina *et al.*, 1995; (d)Kalyuzhnyi, Martinez and Martinez, 1997; (e)Rajeshwari *et al.*, 2000; (f)Erguder *et al.*, 2001; (g)Venkatraman and Achi, 2004; (h)Venetsaneas *et al.*, 2009; (i)Martins *et al.*, 2010; (j)Kabbout *et al.*, 2011; (l)Deshpande, Patil and Anekar, 2012; (m)Rico *et al.*, 2015; (n)Chen *et al.*, 2018; (o)Treu *et al.*, 2018.

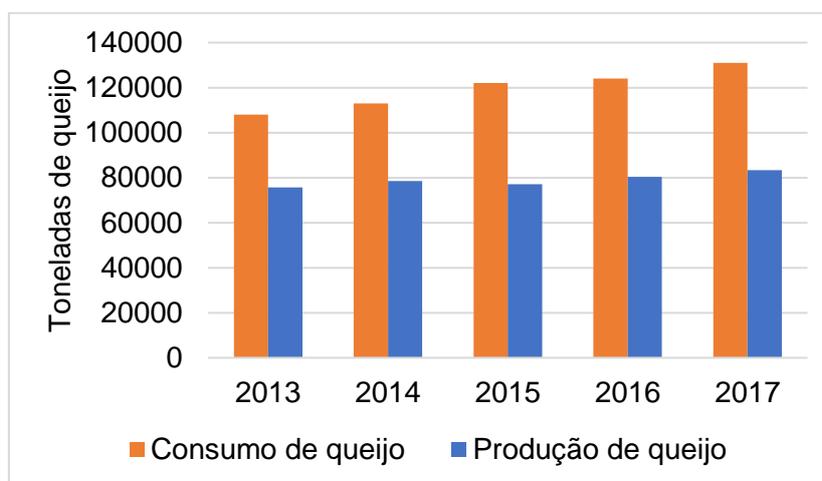
O soro tem vários destinos, tais como, o fabrico de requeijão, fabrico de gelados, alimentação pecuária (Treu *et al.*, 2018), fabrico de manteiga, de bebidas, de iogurtes, de doces, de alimentos diatéticos, de alimentos processados (De Wit, 2001), ou é considerado como resíduo, sendo que algum deste soro é descartado diretamente no meio ambiente. Apesar de existirem diversos processos, nos quais o soro é uma matéria-prima, por conveniência económica as unidades de produção de queijo de pequeno e médio porte, geralmente, não possuem instalações para recuperar os constituintes valiosos do soro, nem sistemas para o tratamento adequado (Rico *et al.*, 2015). Estima-se que a produção mundial de soro seja cerca de 180 000 000 a 190 000 000 toneladas por ano, das quais apenas 50% é processada e valorizada, sendo que os restantes 50% são considerados como um resíduo (Baldasso, Barros and Tessaro, 2011).

Dependendo do tipo de queijo que se está a produzir, podem ser gerados até 9 litros de soro de leite por cada quilograma de queijo produzido (Hwang and Hansen, 1992; Siso, 1996).

### 1.2.1.2. Subsetor da produção de queijo Português

A indústria da produção de queijo Portuguesa caracteriza-se pelo elevado número de empresas de pequena dimensão, dispersas no território, com baixos recursos tecnológicos, com reduzida expressão económica, sem estruturas dedicadas ao tratamento dos efluentes líquidos gerados (GPP, 2007), estrategicamente localizadas próximas dos produtores de leite, em coexistência com um pequeno grupo de empresas que asseguram a maior parte da produção de queijo em Portugal.

Durante o ano de 2017, o valor de negócios associado ao comércio de queijo em Portugal foi de cerca de 477 milhões de euros, fazendo do queijo o produto pertencente ao setor alimentar e de bebidas com o segundo maior volume de negócios em Portugal (Nielsen, 2018). Em termos mássicos, o consumo de queijo correspondeu a aproximadamente 131 000 toneladas (INE, 2018a), sendo que apenas 83 000 foram produzidas em território nacional (INE, 2018b), como se pode constatar através da Figura 1.2, onde se encontra a evolução do consumo e da produção de queijo em território Português, desde 2013 a 2017.



**Figura 1.2-** Evolução do consumo e da produção de queijo em Portugal, desde 2013 a 2017 (INE, 2018a, 2018b).

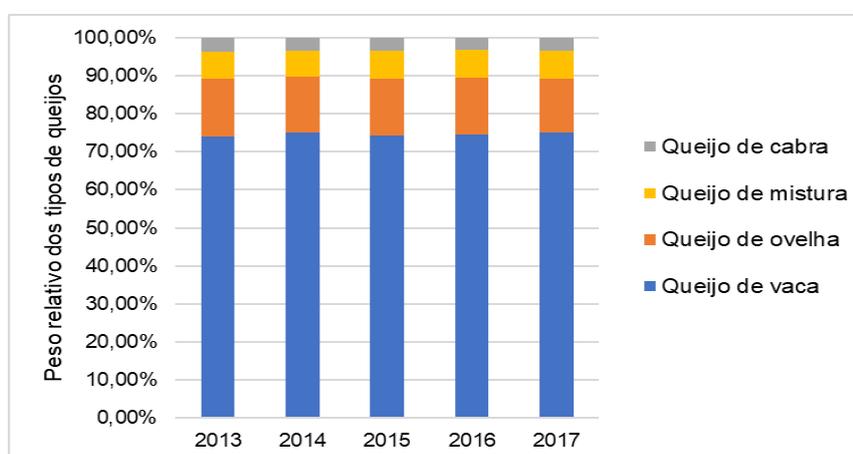
Como se pode verificar através da Figura 1.2, o consumo de queijo no nosso país tem evoluído positivamente nos últimos anos, no entanto, no que respeita à produção constata-se uma estagnação. Para além disso, a Figura 1.2 mostra que Portugal apresenta um baixo nível de autossuficiência.

Atendendo ao facto de que no ano de 2017 foram produzidas 83 000 toneladas de queijo em Portugal, pode-se estimar que tenham sido emitidos cerca de 1 137 100 m<sup>3</sup> de efluentes líquidos pelo subsetor de produção de queijo

Português, por aplicação do fator que relaciona o volume de efluentes líquidos gerados por massa de queijo produzido (13,70 L de efluentes líquidos/kg de queijo; Tabela 1.2).

Considerando que podem ser gerados até 9 litros de soro de leite por cada quilograma de queijo produzido (Hwang and Hansen, 1992; Siso, 1996) e que foram produzidas 83 000 toneladas de queijo em Portugal durante o ano de 2017, estima-se que podem ter sido gerados até 747 000 m<sup>3</sup> de soro de leite. Portanto, mais de metade dos efluentes gerados pelo subsetor do queijo Português podem corresponder a soro de leite.

Entre 2013 e 2017, o queijo de vaca foi o tipo de queijo mais produzido em Portugal, seguido pelo queijo de ovelha, pelo queijo de mistura e pelo queijo de cabra, conforme mostra a Figura 1.3.



**Figura 1.3-** Peso relativo dos tipos de queijos produzidos em Portugal entre 2013 e 2017 (INE, 2018b).

### 1.2.2. Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo biológico em que ocorre a degradação da matéria orgânica na ausência de oxigênio livre (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008), do qual resulta sobretudo uma mistura de gases denominada biogás, que é formado na sua maioria por CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, e em concentrações reduzidas, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub> (Demirel, Yenigun and Onay, 2005; van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008). Parte da matéria orgânica também é utilizada pelos microrganismos para fins reprodutivos, levando a um aumento da massa total de microrganismos (Van Haandel *et al.*, 1999) e uma outra parte da matéria orgânica, que se apresenta tanto na forma solúvel como particulada, não é biodegradável (Batstone *et al.*, 2002).

Atualmente, existe um grande interesse no processo de digestão anaeróbia por diversas razões:

- Permite reduzir a carga poluente de efluentes para níveis aceitáveis (Schnürer and Jarvis, 2018);
- É possível produzir metano, uma fonte de energia renovável (Schnürer and Jarvis, 2018);
- A necessidade de redução de gases com efeito de estufa ao abrigo do Protocolo de Quioto (Hartmann and Ahring, 2005);
- O facto de que a produção de petróleo irá atingir o seu pico num futuro próximo (Hartmann and Ahring, 2005);
- O aumento das necessidades energéticas de países em desenvolvimento, como a China e Índia (Hartmann and Ahring, 2005);
- Existência de conflitos políticos e militares baseados em reivindicações sobre reservas de petróleo (Hartmann and Ahring, 2005).

O processo de digestão anaeróbia é importante na redução da emissão de gases com efeito de estufa, porque ao conter os processos num ambiente fechado, impede que o CO<sub>2</sub> e o CH<sub>4</sub> escapem para a atmosfera como pode acontecer em aterros e porque a energia obtida através do metano produzido reduz as emissões de carbono associadas aos combustíveis fósseis que não fazem parte do ciclo de carbono (Ward *et al.*, 2008).

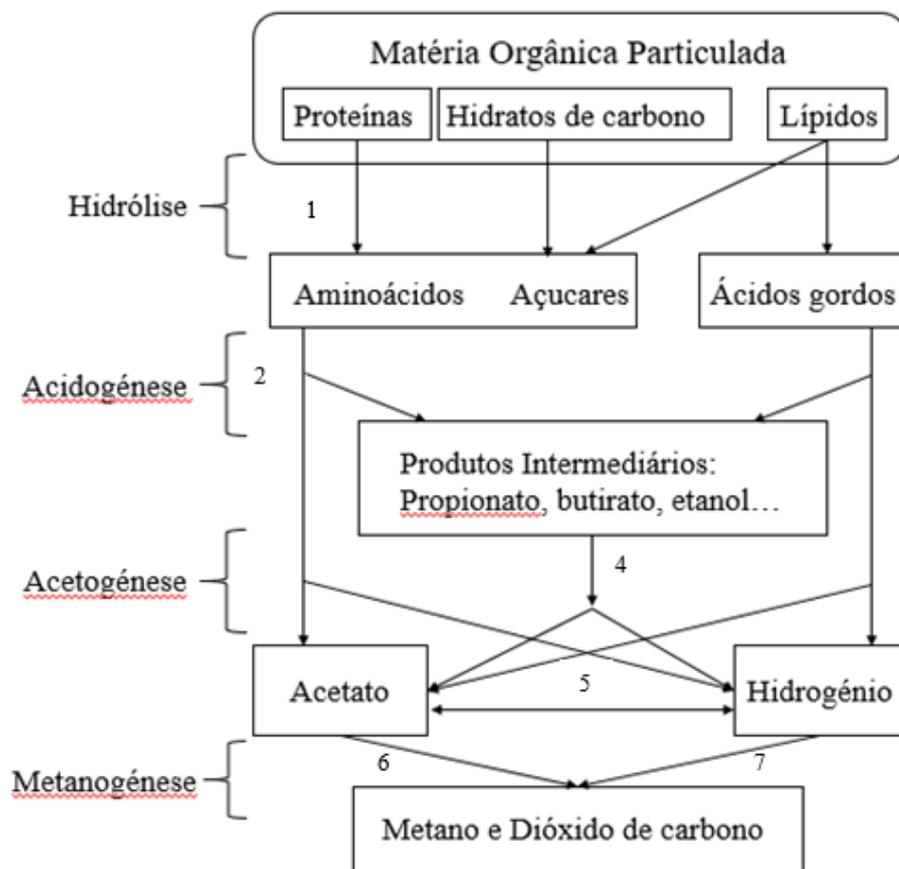
Inicialmente, o processo de digestão anaeróbia era sobretudo utilizado para tratar as lamas resultantes dos processos de digestão aeróbia (Ndon and Dague, 1997). Atualmente, já é empregue noutras vertentes, como por exemplo, no tratamento de efluentes líquidos, no tratamento de resíduos animais (Braun, 2007) e no tratamento da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (Zupančič and Grilc, 2012).

Muitos consideram a digestão anaeróbia um processo instável e incapaz de gerar um efluente de qualidade, enquanto outros defendem a digestão anaeróbia relatando que se trata de um processo eficiente (Azbar, Ursillo and Speece, 2001), desde que alguns parâmetros de operação como a temperatura, idade e floculação da biomassa, pH, salinidade, suplementação de nutrientes, tempo de retenção hidráulico e a carga orgânica sejam monitorizados e mantidos em níveis ótimos (Azbar, Ursillo and Speece, 2001; Schnürer and Jarvis, 2018).

A digestão anaeróbia é composta por um conjunto de reações biológicas e processos metabólicos complexos e variados, levados a cabo por diversos grupos tróficos de microrganismos (Schnürer and Jarvis, 2018).

### 1.2.2.1. Fases da digestão anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em quatro fases principais: hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese (Batstone *et al.*, 2002; Demirel, Yenigun and Onay, 2005), representadas esquematicamente na Figura 1.4.



**Figura 1.4-** Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de Van Haandel *et al.*, 1999; Demirel and Scherer, 2008).

As 4 fases que constituem a digestão anaeróbia podem ser subdivididas em sete etapas, assinaladas na Figura 1.4 pelos números de 1 a 7, sendo as quais (Alves, 1998):

1. Hidrólise de matéria orgânica particulada, nomeadamente proteínas, hidratos de carbono e lípidos que são transformados em aminoácidos, açúcares e ácidos gordos de cadeia longa;
2. Fermentação de aminoácidos e açúcares;
3. Oxidação anaeróbia dos ácidos gordos de cadeia longa;
4. Oxidação anaeróbia dos ácidos voláteis a acetato e hidrogénio;
5. Homoacetogénese, em que ocorre a conversão de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> em acetato e vice-versa;
6. Conversão de acetato a metano;
7. Conversão de hidrogénio a metano.

Os processos metabólicos da digestão anaeróbia são levados a cabo por vários grupos de microrganismos com momentos de atuação bem definidos. Os maiores grupos de microrganismos presentes em sistemas de digestão anaeróbia são microrganismos acidogénicos, microrganismos acetogénicos produtores de hidrogénio, microrganismos acetogénicos consumidores de hidrogénio, microrganismos metanogénicos redutores de dióxido de carbono e microrganismos metanogénicos acetoclásticos (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008).

Quando o processo de digestão anaeróbia é estável, as fases que a constituem ocorrem a taxas de degradação semelhantes (Alexiou, 1998).

#### **1.2.2.1.1. Hidrólise**

A primeira fase da digestão anaeróbia, a hidrólise, consiste na conversão de biopolímeros complexos (proteínas, hidratos de carbono e lípidos) em compostos mais simples (aminoácidos, açúcares e ácidos gordos), através da ação de enzimas excretadas pelas bactérias acidogénicas (Van Haandel *et al.*, 1999). As proteínas dão origem a aminoácidos, os hidratos de carbono a açúcares simples e os lípidos a ácidos gordos (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008). A hidrólise compreende os processos de desintegração, solubilização e hidrólise enzimática (Batstone *et*

*al.*, 2002). As enzimas excretadas pelas bactérias são denominadas por hidrólases (Vavilin *et al.*, 2008).

O processo de hidrólise é importante no processo de digestão anaeróbia, dado que as bactérias que atuam nas etapas subsequentes não possuem a capacidade de assimilar matéria orgânica na forma particulada (Alves, 1998; Lundén, 2003).

Por norma, a hidrólise é considerada a etapa limitativa de todo o processo de digestão anaeróbia, pelo facto de ser um processo demorado (Van Haandel *et al.*, 1999), sobretudo no tratamento de substratos na forma particulada (Lim and Wang, 2013). A hidrólise de lípidos também é lenta, podendo ser esta a causa pela qual a hidrólise pode ser considerada a etapa limitativa na digestão anaeróbia deste tipo de substratos (Kushwaha, Srivastava and Mall, 2011).

Para além do tipo de substrato e da área específica do substrato, também o pH, a temperatura, as características dos microrganismos (fonte das enzimas) são fatores que influenciam a taxa de hidrólise da matéria orgânica (Eastman and Ferguson, 1981).

Com o aumento da temperatura, aumenta a solubilização dos substratos, e conseqüentemente, verifica-se um acréscimo da taxa de hidrólise.

Desta etapa não resulta uma redução da CQO (Alexiou, 1998).

#### **1.2.2.1.2. Acidogénese**

Durante a acidogénese, os produtos resultantes da hidrólise são transportados para o interior das células acidogénicas e convertidos num conjunto de produtos intermediários. São convertidos, principalmente, em AOV (Alexiou, 1998), e em menores concentrações, álcoois, ácido láctico, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>S (Van Haandel *et al.*, 1999). Após a conversão os produtos são excretados pelas bactérias.

A população acidogénica apresenta reduzidos tempos de duplicação, pelo que esta nunca é a etapa limitante do processo (Fonseca and Teixeira, 2007).

O H<sub>2</sub> influencia a disposição dos produtos desta fase. Quando a pressão parcial de H<sub>2</sub> é inferior a 10<sup>-4</sup> atm forma-se preferencialmente acetato e hidrogénio (etapa nº4; Figura 1.4), sendo este percurso mais rentável em termos energéticos (Mosey and Fernandez, 2013). Em oposição, pressões parciais elevadas de H<sub>2</sub>

favorecem a produção de propionato, butirato, succinato, etanol e lactato, sendo que alguns destes AOV são indesejáveis (Grobicki, 1980), por isso, a elevada pressão de H<sub>2</sub> pode ser encarada como um indicador de instabilidade (Barredo and Evison, 1991).

Desta fase resulta uma redução mínima da CQO (Alexiou, 1998).

### **1.2.2.1.3. Acetogénese**

Durante a acetogénese, as bactérias acetogénicas utilizam os intermediários resultantes da acidogénese para produzir acetato, H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (Lundén, 2003). As bactérias acetogénicas consumidoras de hidrogénio são as responsáveis de transformar o CO<sub>2</sub> e o H<sub>2</sub> em acetato e por converter monossacarídeos em acetato sem gerar H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (Alexiou, 1998) e as bactérias acetogénicas produtoras de hidrogénio produzem H<sub>2</sub> através dos produtos da acidogénese. Durante o tratamento de substratos de difícil degradação, as duas reações ocorrem paralelamente, no entanto, forma-se mais H<sub>2</sub> do que CO<sub>2</sub>, porque o número de eletrões disponíveis na matéria orgânica favorece a redução de hidrogénio (Van Haandel *et al.*, 1999).

As bactérias acetogénicas consumidoras de hidrogénio são extremamente importantes, na medida em que permitem manter a pressão parcial de H<sub>2</sub> suficientemente baixa, de modo a que não ocorram episódios de instabilidade. Vários estudos demonstraram que é necessária uma associação estreita entre as bactérias acetogénicas consumidoras de hidrogénio e as bactérias acetogénicas produtoras de hidrogénio na regulação da pressão parcial de H<sub>2</sub> (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008).

Os AGCL são convertidos pelas bactérias acetogénicas produtoras de hidrogénio após a  $\beta$ -oxidação, na qual as partes de acetado são separadas da cadeia alifática (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008), porque as bactérias acidogénicas não são capazes de degradar estes compostos (Fonseca and Teixeira, 2007).

Os organismos que levam a cabo esta fase são de crescimento lento e não se adaptam facilmente a mudanças da carga orgânica (Lundén, 2003), podendo esta fase ser a fase limitante por este motivo.

Durante a acetogénese, a redução da CQO ocorre devido à formação de H<sub>2</sub> (Alexiou, 1998).

#### **1.2.2.1.4. Metanogénese**

Durante a metanogénese, quarta e última fase do processo da digestão anaeróbia, ocorre a formação de  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$  por parte dos microrganismos metanogénicos. O metano é produzido pelos microrganismos metanogénicos redutores de dióxido de carbono a partir de  $\text{CO}_2$  na presença de  $\text{H}_2$ , e pelos microrganismos metanogénicos acetoclásticos através da redução do acetato em  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$  (Van Haandel *et al.*, 1999; van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008). Cerca de 70% do metano produzido resulta da redução do acetato e os restantes 30% da conversão do  $\text{H}_2$  e do  $\text{CO}_2$  (Solera, Romero and Sales, 2002). Por norma, a produção de metano a partir de  $\text{CO}_2$  na presença de  $\text{H}_2$  é mais rápida, devido às taxas de crescimento mais elevadas dos microrganismos metanogénicos redutores de dióxido de carbono (Gerardi, 2003), no entanto, como a pressão parcial de  $\text{H}_2$  normalmente é baixa, a produção de  $\text{CH}_4$  através da redução do acetato é favorecida (Demirel and Scherer, 2008).

Os microrganismos metanogénicos possuem uma baixa taxa de crescimento e são muito sensíveis a fatores externos, como por exemplo o pH, a temperatura e a presença de algumas substâncias químicas (Hori *et al.*, 2006).

#### **1.2.2.2. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia**

Num sistema de tratamento de digestão anaeróbia, o crescimento e a atividade dos microrganismos são significativamente influenciados por diversos parâmetros, tais como a concentração de oxigénio, temperatura, pH, necessidades nutricionais, intensidade da agitação e a presença de substâncias inibidoras, por isso, de modo a garantir uma boa eficiência do processo, é crucial monitorizar os parâmetros e mantê-los dentro das gamas de valores ótimos (Seadi *et al.*, 2008). O controlo dos processos de digestão anaeróbia é muitas das vezes difícil, porque vários parâmetros estão inter-relacionados e mudanças num parâmetro pode afetar direta ou indiretamente os outros (Gerardi, 2003).

### 1.2.2.2.1. Temperatura

Relativamente à atividade microbiológica, podem ser consideradas quatro gamas de temperatura (Gerardi, 2003) (Tabela 1.5).

**Tabela 1.5-** Gamas de temperaturas ideais para o crescimento dos microrganismos anaeróbios (Gerardi, 2003).

Grupo de microrganismos	Gama de temperatura [°C]
Psicrófilos	5-25
Mesófilos	30-35
Termófilos	50-60
Hipertermófilos	>65

A temperatura tem um efeito importante sobre a taxa de crescimento, atividade e metabolismo dos microrganismos (Lettinga *et al.*, 1984).

Os processos anaeróbios são tipicamente operados na gama mesófila, embora temperaturas mais altas situadas na faixa termófila sejam frequentemente usadas para atingir taxas de degradação mais elevadas, e temperaturas mais baixas, na faixa psicrófila, são usadas quando os tempos de retenção mais elevados não são considerados um problema (Alexiou, 1998). Segundo (Seadi *et al.*, 2008), a operação na gama termófila traz variadas vantagens comparativamente com as gamas psicrófila e mesófila, nomeadamente a destruição de patogénicos, elevada taxa de crescimento dos microrganismos metanogénicos (o que permite aplicar cargas orgânicas mais elevadas), tempo de retenção reduzido, melhor digestibilidade e disponibilidade de substratos, e maior possibilidade de separar as frações sólidas e líquidas. No entanto, existem algumas desvantagens, como elevado grau de instabilidade, maior necessidade energética para o aquecimento, elevado risco de inibição por amónia (Seadi *et al.*, 2008) e a fase de arranque pode ser um processo problemático (Fonseca and Teixeira, 2007). Sistemas de digestão anaeróbia a operarem na gama psicrófila apresentam dificuldades na fase de arranque e as taxas de crescimento e de metabolismo dos microrganismos são relativamente baixas (Fonseca and Teixeira, 2007). A escolha pela gama psicrófila pode ser mais conveniente em países de clima frio, mas o arranque deve ser realizado a 35 °C (Van Haandel *et al.*, 1999). Como muitos efluentes líquidos de várias indústrias apresentam uma temperatura superior à temperatura ambiente, o tratamento a temperaturas mesófilas e termófilas poderá ser a melhor opção, porque de outra forma implicaria despender recursos com o arrefecimento do efluente.

A solubilidade dos substratos, principalmente os lípidos, é extremamente afetada pela temperatura (Van Haandel *et al.*, 1999). A temperatura influencia também a solubilidade do H<sub>2</sub> em meio aquoso e, subsequentemente, a atividade

das comunidades de microrganismos metanogénicos redutores de dióxido de carbono, devido à variação da quantidade de hidrogénio dissolvido disponível para o acoplamento com o CO<sub>2</sub> (Treu *et al.*, 2018).

#### 1.2.2.2.2. pH e alcalinidade

O pH afeta direta e indiretamente o processo de digestão anaeróbia: de modo direto, uma variação de pH pode afetar a atividade enzimática através da alteração da estrutura das proteínas, e de modo indireto, o pH pode afetar a toxicidade dos ácidos voláteis, do azoto amoniacal, do sulfureto de hidrogénio, a disponibilidade de substratos e a disponibilidade de CO<sub>2</sub> (Fonseca and Teixeira, 2007).

A maioria dos microrganismos anaeróbios preferem um pH neutro (entre 7,0 e 7,5) (Schnürer and Jarvis, 2018). A metanogénese é a fase mais sensível ao pH no processo de digestão anaeróbia (Yang and Speece, 1986).

O valor de pH pode ser aumentado pela amónia produzida durante a degradação de proteínas ou pela presença de amónia no substrato, enquanto a acumulação de AOV diminui o valor do pH (Seadi *et al.*, 2008). Os reatores anaeróbios podem sofrer uma diminuição repentina do pH, resultado da presença de compostos tóxicos no substrato, porque a acidogénese é a fase com a maior taxa de crescimento e de conversão de todas as fases da digestão anaeróbia, e por isso, enquanto as outras etapas da digestão anaeróbia estagnam, esta continua a acontecer, o que resulta num aumento da concentração de AOV e, conseqüentemente, na diminuição do pH (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008).

Para valores elevados de pH forma-se preferencialmente NH<sub>3</sub> ao invés do ião amónio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e para valores de pH baixos ocorre um deslocamento dos equilíbrios ácido-base dos ácidos voláteis e do H<sub>2</sub>S no sentido das formas não ionizadas que penetram na célula, dissociam-se e provocam o aumento da concentração intracelular de hidrogénio (Fonseca and Teixeira, 2007).

A alcalinidade representa a capacidade em neutralizar as bases e ácidos presentes no sistema, permitindo que não ocorram mudanças bruscas no valor de pH. Na digestão anaeróbia, o pH decresce devido à produção de AOV. À medida que os AOV são consumidos pelos microrganismos metanogénicos, é produzida alcalinidade e o valor de pH volta a subir, no entanto, a alcalinidade pode não ser suficiente para colmatar a descida do pH provocada pelos AOV (Alexiou, 1998). Por

forma a manter o valor de pH constante, deve-se proporcionar uma concentração de alcalinidade entre 2,5 e 5,0 g/L expressa como CaCO<sub>3</sub> (Alexiou, 1998).

### 1.2.2.2.3. Nutrientes

Os microrganismos que participam na digestão anaeróbia necessitam de nutrientes para o seu crescimento (Moreira, 2012), tais como, ferro, níquel, zinco, manganês, cobre (micronutrientes), azoto, fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio (macronutrientes) (Rajeshwari *et al.*, 2000).

Como os rendimentos bacterianos em processos de digestão anaeróbia são relativamente baixos, também a necessidade de nutrientes por parte das bactérias é igualmente baixa (Alexiou, 1998). Os macronutrientes, por exemplo azoto e fósforo, são nutrientes que são necessários em quantidades relativamente elevadas por todas as bactérias e os micronutrientes, por exemplo cobalto e níquel, são nutrientes que são necessárias em quantidades relativamente pequenas pela maioria das bactérias (Gerardi, 2003). O azoto e o fósforo são considerados os nutrientes mais importantes nos processos biológicos (Moreira, 2012). A quantidade de nutrientes necessária relativamente à quantidade de matéria orgânica presente depende da eficiência dos microrganismos em obter energia para síntese através das reações bioquímicas de oxidação do substrato (Van Haandel *et al.*, 1999).

As necessidades nutricionais adequadas para digestores anaeróbios podem ser garantidas através de uma quantidade mínima de um nutriente como uma percentagem da CQO (Gerardi, 2003). A Tabela 1.6 lista alguns dos nutrientes necessários para a digestão anaeróbia e a respetiva quantidade mínima recomendada.

**Tabela 1.6-** Necessidades nutricionais da digestão anaeróbia (Gerardi, 2003).

Nutriente	Micronutriente	Macronutriente	Quantidade mínima recomendada (% de CQO)
Cobalto	X		0,01
Ferro	X		0,2
Níquel	X		0,001
Azoto		X	3-4
Fósforo		X	0,5-1
Enxofre	X		0,2

A diminuição dos nutrientes disponíveis pode ser utilizada como uma ferramenta para diminuir a quantidade de lamas produzidas em excesso (Lettinga, 1995).

#### 1.2.2.2.4. Elementos tóxicos

Existe uma grande variedade de substâncias presentes em concentrações consideráveis nos efluentes que são a causa primária da falha do processo de digestão anaeróbia, como por exemplo, amônia, sulfeto, iões de metais leves, metais pesados e compostos orgânicos (Chen, Cheng and Creamer, 2008). Um material pode ser considerado inibidor quando provoca uma mudança adversa na população microbiana ou inibe o seu crescimento (Chen, Cheng and Creamer, 2008).

Indicadores da presença de elementos tóxicos podem surgir rapidamente ou lentamente dependendo da toxicidade e da concentração do elemento tóxico. A diminuição da produção de metano e a acumulação de ácidos voláteis são uma indicação que o sistema pode estar a sofrer inibição por parte de algum elemento tóxico (Kroeker *et al.*, 1979). Variações nos valores de pH e alcalinidade também podem ser um indicador da presença de elementos tóxicos. A metanogénese é frequentemente considerada a fase mais sensível a compostos tóxicos na digestão anaeróbia (Yang and Speece, 1986; Lettinga, 1995).

O termo tóxico é relativo, visto que concentrações muito baixas de alguns compostos chamados de tóxicos são considerados micronutrientes necessários para alcançar certas eficiências de tratamento (Alexiou, 1998).

A toxicidade está intimamente relacionada com a área superficial específica da biomassa. As lamas suspensas e floculentas, que possuem uma área específica mais elevada, sofrem muito mais com a inibição por parte de compostos tóxicos do que as lamas granulares (Hwu, 1997).

Compostos extremamente inibitórios podem ser degradados através do processo de digestão anaeróbia, desde que a biomassa passe por um processo de adaptação (Lettinga, 1995). A população microbiana pode se aclimar à presença de substâncias tóxicas através de duas formas: os microrganismos podem reparar os sistemas enzimáticos danificados a fim de se ajustar aos resíduos tóxicos ou degradá-los, ou pode se desenvolver uma população relativamente grande de microrganismos capazes de desenvolver as enzimas necessárias para degradar os compostos tóxicos (Gerardi, 2003).

### 1.2.2.3. Digestão anaeróbia de efluentes salinos

Existem muitas atividades industriais que geram efluentes líquidos com elevada salinidade, tais como: processamento de peixe e marisco, produção de conservas de vegetais e pickles, produção de queijo (Ismail, 2013), curtimento de peles (Lefebvre *et al.*, 2005), entre outras. Na produção de queijo pode-se gerar um efluente com elevada salinidade (soro de leite), quando a salga é efetuada através da adição de sal ao leite ou à coalhada. A salga é muito importante no processo de fabricação de queijo, uma vez que possui várias funções nos queijos (Jacinto, Carvalho and Furtado, 2009), tais como: condimentação, controlo do desenvolvimento microbiano, regulação dos processos bioquímicos (enzimas) e físico-químicos, durabilidade (Jacinto, Carvalho and Furtado, 2009) e desidratação dos queijos (Chen *et al.*, 2018).

O rendimento da digestão anaeróbia de efluentes que apresentam uma elevada concentração de sal na sua constituição é normalmente baixa, devido aos efeitos adversos do sal nos microrganismos (Kargi and Dincer, 1996). A elevada salinidade provoca a plasmólise e a perda de atividade dos microrganismos devido ao aumento dramático da pressão osmótica através da membrana bacteriana (Kargi and Dincer, 1996).

Os iões  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  podem melhorar a granulação (Schmidt and Ahring, 1993; Yu, H. H.P. Fang and Tay, 2001; Yu, H.H.P. Fang and Tay, 2001; Yu, Tay and Fang, 2001) através da formação de pontes entre os polímeros extracelulares, mantendo a integridade dos grânulos (Ismail, 2013). Para além disso, estes iões são capazes de neutralizar a carga e condensar a camada dupla, formando um efeito relativamente forte das forças de van der Waals (Liu *et al.*, 2010). A presença de  $\text{Na}^+$  tem um efeito no processo de granulação contrário aos iões apresentados anteriormente. Quando se verifica um rácio elevado de catiões mono para multivalentes na matriz de polímeros extracelulares, os catiões multivalentes na matriz são substituídos por iões monovalentes (Bruus, Nielsen and Keiding, 1992), tornando os grânulos mais fracos e propensos a quebrarem (Ismail, 2013).

Das alterações que os microrganismos sofrem com a elevada salinidade, resulta a diminuição da produção de metano (Rinzema, van Lier and Lettinga, 1988) e a redução da remoção da CQO (Kargi and Dincer, 1996).

Mudanças rápidas na concentração de sal do influente foram relatadas como sendo mais nefastas para os microrganismos anaeróbios do que mudanças graduais (Kincannon and Gaudy, 1968). Mudanças rápidas da concentração de sal provoca a libertação de constituintes celulares, o que resulta num aumento da CQO do efluente de saída (Kargi and Dincer, 1996).

A adaptação adequada da biomassa possibilita o tratamento eficaz dos efluentes líquidos com elevada salinidade (Lefebvre *et al.*, 2007). Alguns microrganismos podem, até certo ponto, adaptar-se a altas concentrações de sal, através da formação de osmólitos, compostos que estabilizam a célula na presença de altas concentrações de sal (Schnürer and Jarvis, 2018). Para o tratamento destes efluentes também podem ser utilizados microrganismos halofílicos, ou seja, microrganismos capazes de sobreviver em ambientes com elevada concentração de sal. Os microrganismos halofílicos podem ser divididos em quatro categorias de acordo com a salinidade que necessitam para um crescimento ideal (Lay, Liu and Fane, 2010) (Tabela 1.7).

**Tabela 1.7-** Categorias de microrganismos de acordo com a gama de NaCl para crescimento ótimo (Lay, Liu and Fane, 2010).

Categoria	Gama de NaCl para um crescimento ideal [g/L]
Não halofílico	<10
Marinho ou ligeiramente halofílico	10-30
Moderadamente halofílico	30-150
Extretamente halofílico	>150

A atividade dos microrganismos anaeróbios podem sofrer uma redução de 50% quando a condutividade do meio se encontra entre 15,9 e 22,0 mS/cm (Mohee and Mudhoo, 2012).

Na Tabela 1.8 estão apresentadas as concentrações ótimas, inibitórias e severamente inibitórias do sódio, potássio, cálcio e magnésio na digestão anaeróbia.

**Tabela 1.8-** Concentrações ótimas, inibitórias e severamente inibitórias do sódio, potássio, cálcio e magnésio na digestão anaeróbia (Mohee and Mudhoo, 2012).

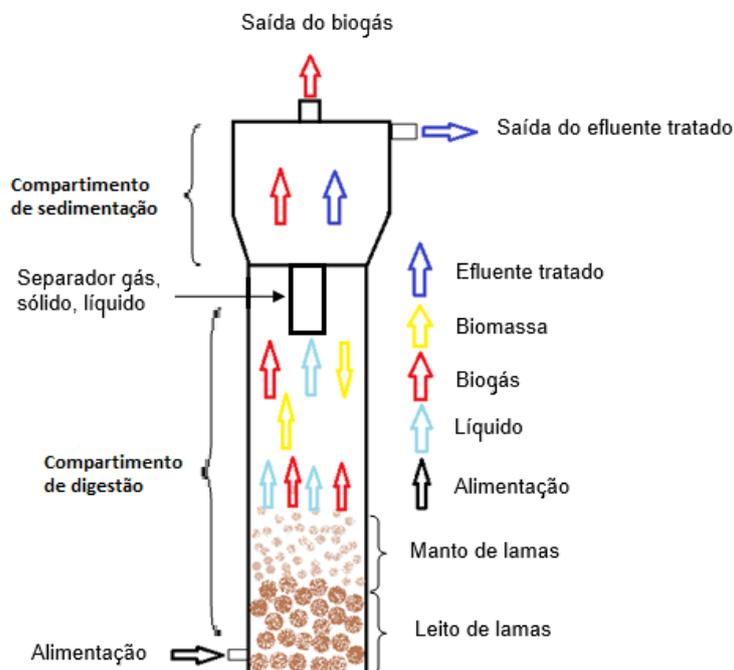
Sal	Concentração média [mg/L]		
	Ótima	Inibitória	Severamente inibitória
Sódio	150	4 500	8 000
Potássio	300	3 500	12 000
Cálcio	150	3 500	8 000
Magnésio	125	2 000	3 000

### **1.2.3. Reator anaeróbio de leito de lamas e fluxo ascendente (UASB)**

O reator UASB é um reator de alta carga desenvolvido por Gatzke Lettinga e a sua equipa nos finais da década de 70 na Universidade de Wageningen, Holanda (Lettinga *et al.*, 1980). Durante as últimas décadas tem-se verificado o potencial de tratamento de diversos efluentes líquidos neste tipo de reatores, tais como águas residuais domésticas (Lettinga *et al.*, 1993), efluentes de laticínios (Coelho *et al.*, 2006), de matadouros (Sayed, 1987), de destilarias, de unidades de processamento de alimentos, de curtumes (Rajeshwari *et al.*, 2000), de cervejarias (Werner *et al.*, 2011), para nomear alguns. Em termos de tratamento de efluentes líquidos, o reator UASB representa um grande avanço nas tecnologias de tratamento anaeróbias, sendo o reator de maior sucesso entre os reatores anaeróbios até ao momento (Van Haandel *et al.*, 1999; Rajagopal *et al.*, 2013). As razões apontadas para o sucesso do reator UASB prendem-se com a capacidade de operar com elevadas cargas orgânicas, tempos de retenção hidráulicos reduzidos, a baixa necessidade de energia, baixa necessidade de espaço, funcionamento simples e excelentes performances. As ideias básicas subjacentes ao processo de funcionamento deste reator são:

- O reator não possui no seu interior qualquer tipo de material de suporte de biomassa (Lettinga *et al.*, 1984), nem é necessário a recirculação de lamas para a manutenção da biomassa ativa no digestor, visto que esta se mantém dentro do reator devido à sua capacidade de formar grânulos, o que lhe confere capacidade de sedimentação, desde que sejam proporcionadas condições ambientais favoráveis à granulação e à sua manutenção (Barbosa, 2009). A capacidade da biomassa se manter dentro do reator, reflete-se num elevado TRS, permitindo assim o tratamento de efluentes com uma CQO elevada sob TRH relativamente curtos;
- O contacto entre a biomassa e o substrato em reatores UASB é promovido através da agitação provocada pelo movimento ascendente do biogás, não sendo por isso necessário agitação neste tipo de reatores, ou é apenas aplicada a uma baixa intensidade e/ou intermitentemente (Lettinga, 1995);
- O reator possui um separador GSL colocado no topo, que permite a separação de alguma biomassa flutuante e do biogás produzido da corrente de efluente líquido tratado (Lettinga *et al.*, 1980), limitando assim o *washout* de biomassa.

O reator UASB típico é composto por duas partes: o compartimento de digestão e o compartimento de sedimentação (Figura 1.5).



**Figura 1.5-** Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB típico.

A alimentação do reator é provida na base do compartimento de digestão em sentido ascendente. No interior do compartimento de digestão, a alimentação atravessa duas zonas distintas. A primeira, designada por zona inferior, ou por leito de lamas, é uma zona onde se verifica uma concentração elevada de biomassa e onde se encontram os grânulos de maiores dimensões (Fonseca and Teixeira, 2007). A segunda, a zona superior ou manto de lamas, é onde predominam flocos de tamanho mais reduzido e onde a concentração de biomassa é inferior (Fonseca and Teixeira, 2007). Na fase final do tratamento, o líquido chega ao separador GSL, um objeto capaz de proporcionar condições de quiescência no compartimento de sedimentação, permitindo que o biogás produzido e alguma biomassa em suspensão sejam separados da corrente do efluente líquido. Desta separação resulta a sedimentação da biomassa para as zonas inferiores do reator (Lettinga *et al.*, 1984) e o biogás gerado e o efluente tratado são retirados através de dois orifícios localizados no compartimento de sedimentação. A digestão do substrato ocorre unicamente no compartimento de digestão, porque é a única zona onde existe biomassa.

A velocidade ascensional é um parâmetro muito importante na operação de tratamento num reator UASB, visto que influencia o TRH, a mistura entre a biomassa e o substrato (Latif *et al.*, 2011), o processo de granulação e o tamanho dos grânulos (Arne Alphenaar, Visser and Lettinga, 1993; Siebel, 2013). A velocidade ascensional é diretamente proporcional à altura do reator ( $H$  [m]) para

um TRH fixo e inversamente proporcional ao TRH para um volume do reator fixo (Lettinga and Hulshoff Pol, 1991), como se pode observar na Equação 1-1. Também é possível determinar a velocidade ascensional através do caudal ( $Q[m^3/h]$ ) e da área transversal do reator ( $A[m^2]$ ), como se pode constatar na Equação 1-2.

$$Va \left[ \frac{m}{h} \right] = \frac{H[m]}{TRH[h]} \quad (\text{Equação 1-1})$$

$$Va \left[ \frac{m}{h} \right] = \frac{Q \left[ \frac{m^3}{h} \right]}{A[m^2]} \quad (\text{Equação 1-2})$$

A velocidade ascensional é estabelecida com base na capacidade de sedimentação das lamas e nas características do substrato. Para o caso de lamas floculentas, a gama de velocidades ótima é de 0,3 a 0,6 m/h, ao passo que no caso de lamas granulares a gama de velocidades ótima é de 1,5 a 3,0 m/h (Siebel, 2013). Para um leito de lamas floculentas, o reator UASB pode operar com cargas entre 2,0 e 8,0 g CQO/ $m^3.d$  e entre 2,0 e 24,0 g CQO/ $m^3.d$  para um leito de lamas granulares (Lettinga and Hulshoff Pol, 1991).

A granulação consiste na capacidade que os microrganismos possuem, quando crescem sob um regime de fluxo ascendente, de se agregarem e formarem grânulos (Guiot, Arcand and Chavarie, 1992) com uma forma esférica cujo diâmetro varia entre 0,14 a 5,00 mm (Schmidt and Ahring, 1996). Este processo ocorre de forma natural e espontânea quando são reunidas condições ambientais adequadas para a imobilização dos microrganismos (Jian and Shi-yi, 1993). O processo de granulação é afetado por vários fatores, nomeadamente: composição e concentração da matéria orgânica no efluente a ser tratado, temperatura, pH, concentração de azoto e amónia, presença de cátions polivalentes, condições hidrodinâmicas, inóculo e a produção de substâncias poliméricas extracelulares pelos microrganismos anaeróbios (García *et al.*, 2008).

A presença de iões e sais pode influenciar a granulação, como já foi referido anteriormente (Secção 1.2.2.3). Cátions multivalentes, como por exemplo  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$  e  $Fe^{2+}$  melhoram a granulação, porque neutralizam a carga e condensam a camada dupla, originando um efeito relativamente forte das forças de van der Waals (Liu *et al.*, 2010), além de que são capazes de formar pontes entre os polímeros extracelulares (Ismail, 2013). Por outro lado, o ião sódio degrada os grânulos, visto que o  $Na^+$  substitui os cátions multivalentes na matriz de polímeros extracelulares, fragilizando os grânulos (Ismail, 2013).

A granulação ocorre melhor com substratos que apresentem na sua constituição proteínas solúveis e hidratos de carbono ligeiramente acidificados do que com substratos que possuem unicamente AOV (Lettinga, 1995). (Morvai *et al.*, 1990) verificou que os grânulos desenvolvidos em reatores UASB alimentados com acetato eram mais desorganizados, menos estáveis e demoraram mais tempo a formar-se do que aqueles desenvolvidos em reatores UASB alimentados com amido de açúcar. Segundo (Lettinga, 1995), em condições de temperatura mesófilas e termófilas, a um pH superior a 6,3 e a baixas concentrações de substrato (entre 1 e 3 gCQO<sub>biodegradável</sub>/L), são as melhores condições para a formação e manutenção de grânulos (Lettinga, 1995). Um TRH curto, especialmente combinado com uma alta velocidade ascensional, pode promover a granulação (Arne Alphenaar, Visser and Lettinga, 1993). Normalmente, a velocidade ascensional e o tamanho dos grânulos possuem uma relação proporcionalmente direta (Dubourguier *et al.*, 1988).

A biomassa granular pode ser obtida a partir de biomassa floculenta com uma variedade de efluentes industriais (Alves, 1998). Apesar de a biomassa granular ser uma ideia subjacente ao processo de digestão anaeróbia em UASB, é possível operar estes reatores com lama floculenta espessa e com boas características de sedimentação (Lettinga, 1995). A retenção da biomassa dentro do reator pode ser melhorada através da adição de floculantes que podem estimular a formação de grânulos densos com melhor capacidade de sedimentação (García *et al.*, 2008).

A matéria orgânica e inorgânica dispersa retarda a granulação, e por isso, não deve estar presente em concentrações superiores a 100-200 mg/L no efluente (Lettinga, 1995).

O separador GSL é de extrema importância para o funcionamento do reator UASB, uma vez que proporciona quiescência no compartimento de sedimentação, permitindo assim a separação de alguma biomassa flutuante e do biogás produzido da corrente de efluente líquido tratado (Lettinga *et al.*, 1980), limitando assim o *washout* de biomassa.

Existem diversos casos em que é necessário a utilização de separadores GSL específicos, devido às características dos substratos que promovem a flotação da biomassa, nomeadamente (Lettinga, 1996):

- Nos casos em que elevadas cargas de lamas são aplicadas, a taxa de libertação do biogás pode se tornar baixa relativamente à taxa de produção de biogás, podendo fazer com que a presença de biogás dentro dos agregados de microrganismos cause a flotação de partículas de lamas;

- Quando a adsorção de lípidos e/ou proteínas nos grânulos constituem uma razão para a flotação da biomassa;
- No tratamento de efluentes com baixa carga orgânica sob baixo TRH (<1-2 horas).

O arranque dos reatores é uma fase crítica no tratamento. Esta fase é extremamente influenciada pela população microbiana inicialmente presente no inóculo, pela sua concentração e atividade (Hickey *et al.*, 1991). Quando se inicia a operação de um reator os microrganismos do inóculo necessitam de tempo para se adaptarem ao substrato, sendo que durante esta fase os microrganismos dotados com as melhores características de sobrevivência no novo ambiente, irão crescer e estabelecer-se, por isso, iniciar com um inóculo com uma elevada diversidade microbiana é importante, na medida em que a probabilidade de existirem os microrganismos chave para a degradação do substrato no inóculo é superior (Schnürer and Jarvis, 2018). O período de adaptação pode ser mais rápido e episódios de instabilidade podem ser evitados se for selecionado um inóculo adaptado ao substrato e às condições de operação (Schnürer, Bohn and Moestedt, 2016). A fase de arranque em reatores UASB não serve apenas para desenvolver uma comunidade de microrganismos preparada para degradar o substrato, mas também para obter biomassa com elevada capacidade de granulação e sedimentação. A operação em reatores UASB iniciada com lamas granulares em vez de lamas floculentas permite diminuir o período de adaptação (Goodwin, Wase and Forster, 1992). A fase de arranque está completa quando a carga orgânica do projeto é atingida (van Lier, Mahmoud and Zeeman, 2008), sendo necessário um período de 4 a 8 meses para que a comunidade microbiana atinja um estado estacionário (Hickey *et al.*, 1991).

A quantidade de biomassa inicial requerida num reator UASB situa-se entre 10 e 30% do volume do reator, sendo que quanto maior a quantidade de biomassa inicial, maior poderá ser a carga inicial aplicada (Hickey *et al.*, 1991).

### 1.2.3.1. Reatores UASB no tratamento de soro de queijo

A prevenção e a redução da poluição do soro de queijo podem ser alcançadas através da sua reciclagem ou através da reutilização dos seus componentes, como por exemplo através do fabrico de requeijão e alimentação pecuária (Treu *et al.*, 2018) ou através de diferentes tratamentos: físico-químico (Martins *et al.*, 2010), digestão aeróbia (Bosco and Chiampo, 2010) e digestão anaeróbia (Erguder *et al.*, 2001). Relativamente aos tratamentos físico-químicos, o custo dos agentes químicos é elevado e a remoção da CQO é baixa, por isso, normalmente, os processos biológicos são preferíveis (Vidal *et al.*, 2000). A elevada carga orgânica que o soro possui, torna-o num candidato ao tratamento biológico, especialmente digestão anaeróbia (Gutierrez, 1991), visto que a suplementação de oxigénio necessária para a realização da digestão aeróbia deste efluente é demasiadamente cara (Erguder *et al.*, 2001). São vários os autores que estudaram o tratamento de soro de leite em reatores UASB sob diferentes condições de operação (Tabela 1.9).

**Tabela 1.9-** Parâmetros de operação de reatores UASB usados no tratamento de soro de leite.

Substrato	CQO <sub>inicial</sub> [g/L]	pH	T[°C]	Bv[gCQO/L.d]	TRH[d]	Remoção da CQO[%]	Produção de CH <sub>4</sub>	Referência
Soro diluído	4,5-38,1	6,7-7,3	33±1	0,91-7,77	5	70-97	1,37-11,20 [LCH <sub>4</sub> /L.d]	(a)
Soro	2,05	7,2-7,3	35	31,0	0,071	--	9,92 [LCH <sub>4</sub> /L.d]	(b)
Soro	5,0-77,0	7,0-8,0	35	1,0-28,5	2,3-11,6	>85	--	(c)
Soro	47,0-55,0	6,0-7,0	22-30	7,0-9,5	5,4-6,8	90-94	--	(c)
Soro	16,0-50,0	6,8-7,0	20-29	1,0-6,7	3,3-12,8	90-95	--	(c)
Soro diluído	12,0-44,0	7,0-7,3	35	2,0-7,3	6	85-99	--	(d)
Soro diluído	55,7-58,4	4,0-7,0	35	22,6-24,6	2,06-2,46	95-97	23,4 [LCH <sub>4</sub> /L <sub>soro</sub> ]	(e)

Referências: (a) Yan, Lo and Liao, 1989; (b) Gutierrez, 1991; (c) Kalyuzhnyi, Martinez and Martinez, 1997; (d) Gavala *et al.*, 1999; (e) Erguder *et al.*, 2001.

Dos estudos apresentados, foram reportadas eficiências de remoção da CQO que variam entre 70 e 99%, tendo sido as maiores eficiências de remoção obtidas quando foi utilizado soro diluído. Verifica-se a existência de uma relação entre o TRH e a carga orgânica. Quanto maior a carga orgânica aplicada maior o TRH, como seria de esperar. No que diz respeito à temperatura de digestão, a maioria dos autores optam por temperaturas mesófilas. O pH é geralmente neutro. No geral, constata-se que os reatores UASB são adequados para o tratamento do soro de leite (Chatzipaschali and Stamatis, 2012). Não foi encontrada bibliografia

acerca da biodegradabilidade anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores UASB.

A elevada carga orgânica e baixa alcalinidade inerente ao soro, torna particularmente difícil o seu tratamento em reatores anaeróbios de elevada carga (Malaspina *et al.*, 1995). Como a matéria orgânica presente no soro se encontra na forma solúvel, leva a uma rápida transformação da matéria orgânica em AOV, baixando o pH a níveis que inibem a metanogénese e consumindo a alcalinidade, podendo resultar na instabilidade ou falência dos reatores (Rico *et al.*, 2015). (García, Fdz-Polanco and Rico, 1991) constataram instabilidade e tendência para acidificar quando se aplicaram cargas orgânicas superiores a 5 kg/m<sup>3</sup>.d num reator UASB aquando da digestão de soro. Com cargas orgânicas superiores a 8 kg/m<sup>3</sup>.d foi necessário adicionar mais de 1 gNaHCO<sub>3</sub>/L<sub>efluente</sub>. (Yan, Lo and Pinder, 1993) reportaram que entre 25 e 30 gCQO/L e um TRH de 5 dias eram condições ótimas para um funcionamento estável de um reator UASB. Quando se fez aumentar a concentração de soro até 38,1 gCQO/L, verificou-se a instabilidade do processo. A instabilidade observada foi interpretada como sendo causada pela acumulação de AOV.

Têm surgido várias soluções para este problema. Alguns autores afirmam que trabalhar com soro desprovido de proteínas ou soro diluído é muito mais simples de tratar e evitam-se episódios de instabilidade associados à acumulação de AOV (Malaspina *et al.*, 1995; Kalyuzhnyi, Martinez and Martinez, 1997). A adição de alcalinidade pode ser uma solução para neutralizar os ácidos presentes no sistema, permitindo que não ocorram mudanças bruscas no valor de pH. A adoção de processos de duas fases também surge como uma boa resposta a este problema (García, Fdz-Polanco and Rico, 1991). Esta alternativa consiste na realização da fase acidogénica num primeiro digestor e da fase metanogénica num segundo digestor. Diferentes combinações de reatores foram estudadas para o tratamento do soro: um reator UASB onde se realizava a fase acidogénica, seguido por outro onde ocorria a metanogénese, sendo que o efluente do reator de acidificação era diluído com o efluente do reator de metanização (García, Fdz-Polanco and Rico, 1991); um CSTR para a acidificação do soro, seguido por um tanque de decantação para a separação da biomassa de acidificação do efluente (que depois era recirculada para dentro do CSTR), e posteriormente um reator UASB, onde ocorria a metanogénese (Diamantis *et al.*, 2014), para nomear alguns. (García, Fdz-Polanco and Rico, 1991) demonstrou que a diluição do influente com o efluente do reator de metanização, permite que o reator de acidificação opere sem ser necessário a adição de alcalinidade. As percentagens de remoção de CQO foram superiores a 99% para uma carga orgânica inicial de 30 gCQO/L e para um TRH de 2 e 3 dias para o reator de acidificação e para o reator de metanização, respetivamente. Segundo (Diamantis *et al.*, 2014), o uso de um CSTR seguido de

separação e recirculação da biomassa, resultou na acidificação completa do substrato e no ótimo desempenho do UASB, tanto na remoção da CQO como na eficiência de metanização. O sistema foi capaz de garantir uma remoção de 90% e uma produção de metano na ordem de  $0,37 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kgCQO}_{\text{removida}}$ . Não foi necessário adicionar alcalinidade, visto que o pH foi mantido, naturalmente, em torno de 6,7 até valores de carga orgânica de  $20 \text{ kgCQO}/\text{m}^3\cdot\text{d}$ . Alguns autores optaram por um TRH mais longo no tratamento de soro não diluído em reatores UASB para superar os possíveis problemas de instabilidade, no entanto, esta opção reduz as principais atrações dos sistemas anaeróbios, que são os baixos TRH, reatores com menores volumes e custos mais baixos (Erguder *et al.*, 2001).

A elevada quantidade de lípidos na composição do soro pode provocar vários problemas nos reatores UASB, nomeadamente inibição dos microrganismos, *washout* da biomassa, impedimento da granulação e entupimento do reator (Angelidaki and Ahring, 1992). Em condições anaeróbias, as gorduras presentes no substrato são hidrolisadas em AGCL (Lalman and Bagley, 2001). Estes ácidos afetam negativamente a granulação, na medida em que ocorre a sua adsorção aos grânulos, tornando-os mais leves, resultando na sua flutuação e consequente *washout* (Hwu, 1997). A flutuação dos grânulos pode dar origem à formação de espumas na zona do separador GSL, entupindo o reator e impedindo a saída do biogás (Ozturk *et al.*, 1993). A adsorção de AGCL à biomassa afeta as funções de transporte e de proteção das células devido às interações físicas com as paredes das células (Galbraith and Miller, 1973). A presença de AGCL também promove o crescimento da população de biomassa acidificante de crescimento rápido no reator (Guiot *et al.*, 1994). Esta biomassa pode facilmente proliferar como uma suspensão no efluente, resultando no aumento de SS no efluente (Guiot *et al.*, 1994). Este comportamento da biomassa deve-se à capacidade que esta possui em produzir polímeros extracelulares, que alteram a razão superfície/volume dos grânulos, que em associação com a produção de biogás, promove a tendência para o *washout* (Vidal *et al.*, 2000).

A capacidade de oxidação de AGCL apenas foi demonstrada pela família de microrganismos *Syntrophomonadaceae* e por alguns membros da família *Syntrophaceae*, do filo *Firmicutes* (Grabowski *et al.*, 2005).

Algumas proteínas, como a caseína, que representa cerca de 80% das proteínas que constituem o soro são bastante resistentes à degradação por parte dos microrganismos, por isso, o uso de microrganismos específicos para a degradação desta proteína são necessários (Prazeres, Carvalho and Rivas, 2012).

#### **1.2.4. Caracterização geral do *biochar***

O *biochar* é um material sólido obtido a partir da conversão termoquímica de biomassa num ambiente com limitação de oxigénio (pirólise) (IBI, 2015). Este material pode ser produzido através de vários tipos de biomassa, tais como resíduos agrícolas, resíduos florestais e lamas biológicas (Wang and Wang, 2019). Do processo que dá origem ao *biochar*, a pirólise, resultam ainda outros produtos: gases e bio óleo (Shaheen *et al.*, 2018). O *biochar* é um material que tem vindo a receber bastante atenção devido às suas características únicas: alto teor de carbono, capacidade de troca de catiões, elevada área de superfície específica e estrutura estável (Wang and Wang, 2019), o que lhe permite adsorver contaminantes na sua superfície (Fagbohunge *et al.*, 2017). O *biochar* tem sido principalmente utilizado para corrigir e melhorar as características do solo, sequestro de carbono, compostagem de resíduos sólidos orgânicos, tratamento de águas residuais (Wang and Wang, 2019). O seu custo reduzido relativamente a outros adsorventes, como por exemplo, carvão ativado e zeólito, tem feito aumentar gradualmente a sua utilização (Fagbohunge *et al.*, 2017).

##### **1.2.4.1. Utilização de *biochar* no tratamento de efluentes líquidos**

No que toca à utilização de *biochar* no tratamento de efluentes líquidos, a grande maioria dos autores estuda a capacidade que o *biochar* tem de remover um ou mais dos seguintes contaminantes da água residual: contaminantes microbiológicos (Sun *et al.*, 2018), antibióticos (Yao *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2013) e metais pesados (Tan *et al.*, 2015), sendo que a maioria dos autores constataram que o *biochar* é capaz de remover com distinção a maioria destes contaminantes dos efluentes líquidos (Boshir *et al.*, 2016).

A adsorção é o principal mecanismo de remoção de contaminantes pelo *biochar* (Wang and Wang, 2019). A capacidade de adsorção varia com a área da superfície, o tamanho dos poros, os grupos funcionais e a capacidade de troca de catiões do *biochar* (Gai *et al.*, 2014), enquanto que estas características variam com as condições de preparação do *biochar* (Abdel-fattah *et al.*, 2015) e as propriedades da biomassa (Lua and Guo, 2000; Zheng *et al.*, 2013).

Estudos sobre a aplicação de *biochar* em sistemas de digestão anaeróbia são incomuns. Não foram encontrados estudos acerca da influência do *biochar* na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite.

A adição de *biochar* em sistemas de digestão anaeróbia pode contribuir para a estabilidade do processo através de três formas: adsorção de elementos tóxicos (Lü *et al.*, 2016), aumento da alcalinidade do sistema e imobilização dos microrganismos (Sunyoto *et al.*, 2016).

(Lü *et al.*, 2016) reportaram que *biochar* de vários diâmetros preveniu a inibição de amônio até 7g-N/L durante a digestão anaeróbia de um substrato com 6 g/L de glucose em reatores *batch*. Comparativamente à réplica de controlo, na qual não se adicionou *biochar*, a adição de uma concentração de 10 g/L de *biochar* de árvores de fruto com um tamanho de 2 a 5 mm, 0,5 a 1 mm e 75 a 150 µm reduziu a fase de atraso de metanização em 23,9%, 23,8% e 5,9%, respetivamente, e aumentou a produção de metano em 47,1%, 23,5% e 44,1%, respetivamente. (Luo *et al.*, 2014) verificou que 10 g/L de *biochar* de árvores de fruto com um diâmetro compreendido entre 0,5 e 1 mm em reatores anaeróbios *batch* alimentados com diferentes concentrações de glucose (4, 6 e 8 g/L) promoveu a produção e a degradação de ácidos intermediários. Relativamente à réplica de controlo, foi possível reduzir a fase de atraso de metanização em 11,4%, 30,3% e 21,6%, e aumentar a produção de metano em 86,6%, 21,4% e 5,2%, para os reatores alimentados com 4, 6 e 8 g/L de glucose, respetivamente.

Como o *biochar* não é seletivo relativamente aos alvos da adsorção, existe a possibilidade de que alguns nutrientes e compostos importantes para a digestão anaeróbia sejam adsorvidos pelo *biochar* (Mumme *et al.*, 2014). Para (Fagbohunge *et al.*, 2017) esta questão não se revela um problema, na medida em que os microrganismos podem metabolizar parte dos compostos adsorvidos.

A aplicação de *biochar* num sistema de digestão anaeróbia pode aumentar a alcalinidade, de forma a neutralizar as bases e ácidos presentes. (Sunyoto *et al.*, 2016) estudou os efeitos da adição de *biochar* de serragem de pinho na digestão de hidratos de carbono em reatores *batch* a operarem em duas fases. Para além de se verificar que com a adição de *biochar* não ocorreram mudanças bruscas no valor de pH, também permitiu uma melhoria da performance dos reatores relativamente às réplicas de controlo.

O *biochar* possui uma elevada área superficial, o que facilita a colonização dos microrganismos durante a digestão anaeróbia (Lehmann and Joseph, 2016). Para além disso, o *biochar* possui nutrientes que suportam temporariamente o crescimento e o metabolismo dos microrganismos (Lehmann and Joseph, 2016; Sunyoto *et al.*, 2016). (Luo *et al.*, 2014) observou a colonização de *Methanosarina*, um microrganismo metanogénico anaeróbio, em *biochar* durante a digestão anaeróbia de uma solução de glucose. Comparativamente à réplica sem *biochar*, a comunidade de *Methanosarina* no reator com *biochar* estava mais desenvolvida, tendo gerado 86,6% mais metano que a réplica de controlo.

### 1.3. Motivações e objetivos

Nas últimas décadas verificou-se uma evolução do conhecimento dos processos de digestão anaeróbia. Paralelamente, ocorreu a implementação de sistemas de digestão anaeróbia em praticamente todo o globo. A consolidação deste tipo de sistemas, sobretudo sistemas de alta carga, tem contribuído bastante para a sustentabilidade e para a promoção de uma sociedade mais autossustentável. Entre os reatores anaeróbios, o reator UASB é o reator de maior sucesso até ao momento (Rajagopal *et al.*, 2013).

O subsetor da produção de queijo é um dos maiores produtores de efluentes líquidos da indústria de laticínios (INETI, 2001). Os efluentes da produção de queijo apresentam um elevado potencial poluidor, devendo-se principalmente à presença de soro de leite na sua constituição (Kushwaha, Srivastava and Mall, 2011). O soro é um dos efluentes líquidos mais poluentes entre todos os efluentes do setor dos laticínios, dado que contém uma enorme quantidade de matéria orgânica biodegradável (Kabbout *et al.*, 2011). Apesar de existirem diversos processos nos quais o soro é uma matéria-prima, por conveniência económica, as unidades de produção de queijo de pequeno e médio porte, geralmente não possuem instalações para recuperar os constituintes valiosos do soro, nem sistemas para o seu tratamento adequado (Rico *et al.*, 2015).

Na região da Serra da Estrela, é produzido um dos queijos mais conhecidos de Portugal, o Queijo Serra da Estrela. As queijarias produtoras deste tipo de queijo geram soro de leite com elevada carga orgânica e elevado teor de sal, sendo que a maioria são pequenas unidades industriais que não possuem infraestruturas dedicadas ao tratamento dos efluentes líquidos gerados, sendo estes enviados para as ETAR ou rejeitados nos meios hídricos sem qualquer tipo de tratamento. Apesar da grande eficiência das ETAR a tratarem águas residuais urbanas, o seu funcionamento é incompatível com a receção dos efluentes das queijarias, (Mendes and Mendonça, 2013). O encaminhamento deste tipo de efluentes para os meios hídricos sem qualquer tipo de tratamento, resulta num conjunto de problemas ambientais nefastos, nomeadamente: elevado consumo de oxigénio (Rico *et al.*, 2015), eutrofização, impermeabilização e toxicidade (Prazeres, Carvalho and Rivas, 2012). Portanto, justifica-se a realização de um estudo sobre o tratamento anaeróbio do efluente mais poluente produzido neste tipo de queijarias, o soro de leite, como medida de contribuir para a resolução deste problema que afeta não só as queijarias da Serra da Estrela, mas também outras localizadas em outras zonas do país.

Tendo em conta a necessidade de resolver os problemas que as pequenas e médias queijarias enfrentam com o soro de leite gerado, o principal objetivo deste trabalho é estudar a biodegradabilidade anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade. Ao longo desta tese, foram ainda considerados os seguintes objetivos específicos:

- Estudar os efeitos sinérgicos entre a carga orgânica, teor de SSV e alcalinidade na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade e a contribuição para o processo de cada um dos parâmetros;
- Estudar a influência do *biochar* e da sua granulometria na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite;
- Estudar a viabilidade de reatores UASB na digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade na presença e na ausência de *biochar*;
- Avaliar a adaptabilidade da biomassa durante a digestão anaeróbia do soro de leite, bem como monitorizar os grupos microbiológicos chave para a degradação anaeróbia deste tipo de substrato.

O desempenho dos reatores foi analisado através da monitorização dos seguintes parâmetros:

- Remoção da CQO;
- Produção de metano;
- Eficiência de metanização da CQO removida;
- A concentração de AOV;
- Caracterização da comunidade microbiana desenvolvida;
- Fenómenos de inibição;

## 2. Materiais e métodos

O trabalho experimental compreendeu quatro fases. Na primeira fase estudou-se os sinergismos entre a carga orgânica, o teor de SSV e a concentração de alcalinidade na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade e a contribuição para o processo de cada um destes parâmetros através da avaliação do desempenho de reatores descontínuos. Na segunda fase, repetiram-se os 6 ensaios da primeira fase que mostraram melhor desempenho (em termos da eficiência de remoção da CQO, eficiência de metanização e volume de metano gerado), reutilizando a biomassa. A repetição destes ensaios visava avaliar a adaptabilidade da biomassa. Na terceira fase foi avaliada a influência do *biochar* e da sua granulometria na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite, utilizando ensaios descontínuos. Por fim, na última fase foram operados reatores UASB. Com a operação dos reatores UASB pretendeu-se estudar a viabilidade do processo de digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores UASB com e sem *biochar*.

### 2.1. Caracterização do inóculo

O inóculo utilizado nos ensaios realizados foi biomassa anaeróbia obtida de um digestor anaeróbio mesófilo integrado na ETAR SIMRIA, localizada na freguesia da Gafanha da Encarnação, município de Ílhavo, Aveiro. Esta ETAR recebe, diariamente, cerca de 30 000 m<sup>3</sup> de efluentes domésticos e industriais provenientes dos concelhos de Ílhavo, Mira, Vagos e parte de Aveiro (Águas do Centro Litoral, 2019). Após a sua recolha na ETAR, a biomassa foi lavada com água, para remover o máximo de carga orgânica. A lavagem consistiu na adição de água à biomassa e na sua decantação após um período de sedimentação de 24 horas. Este processo foi realizado duas vezes. Foi recolhida biomassa em dois períodos distintos (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1-** Caracterização das lamas anaeróbias utilizadas no trabalho experimental (média±desvio padrão).

Ensaio	SST [mg/L]	SSV [mg/L]	CQO <sub>solúvel</sub> [mgO <sub>2</sub> /L]
Descontínuos (1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> fase)	28,30±0,28	21,63±0,09	45,67±11,36
Descontínuos (3 <sup>a</sup> fase); UASB (4 <sup>a</sup> fase)	31,02±0,53	23,85±0,39	57,67±8,39

## 2.2. Caracterização do substrato

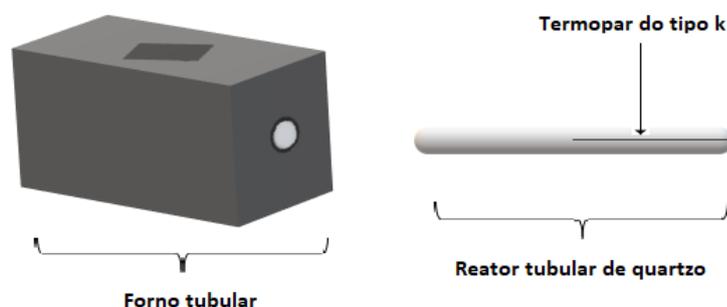
O substrato utilizado neste trabalho foi soro de leite proveniente de uma pequena queijaria que produz Queijo Serra da Estrela de modo semi-artesanal. A Tabela 2.2 apresenta a sua caracterização.

**Tabela 2.2-** Caracterização do substrato utilizado no trabalho experimental (média±desvio padrão).

	SST [g/L]	SSV [g/L]	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	pH	Condutividade [ms/cm]
Soro de leite	9,02±0,58	8,70±0,50	115,69±5,81	73,77±10,41	5,86±0,33	29,9±2,14

## 2.3. Caracterização do *biochar*

O *biochar* utilizado neste trabalho foi obtido através do processo de pirólise de casca de pinhão de pinheiro manso (*Pinus pinea*). A instalação experimental utilizada na preparação do *biochar* era composta por um reator tubular de quartzo de leito fixo com 20 mm de diâmetro interno, 23 mm de diâmetro externo e 300 mm de comprimento. A amostra foi colocada ao longo de 140 mm de comprimento central do reator. No ponto médio da amostra foi colocado um termopar do tipo k para monitorizar a temperatura. O forno tubular era controlado por um sistema de controlo eletrónico que permitia definir a temperatura de pico, a taxa de aquecimento e tempo *soak* do reator. Este sistema permitia também a aquisição de dados de temperatura. A temperatura foi registada pelo sistema em ciclos de 10 segundos. A instalação experimental de produção de *biochar* está representada esquematicamente na Figura 2.1.



**Figura 2.1-** Esquema da instalação experimental de produção de *biochar*.

O procedimento experimental de produção do *biochar* consistiu na pesagem da amostra, colocação da amostra no reator e na colocação do reator no forno. Simultaneamente, foi ativado o sistema de aquecimento do forno e o sistema de aquisição de dados de temperatura. Durante o processo, fez-se passar N<sub>2</sub> (0,250 L/min) pelo interior do reator para remover os gases produzidos durante a pirólise e para evitar a entrada de O<sub>2</sub>. Após o processo de pirólise, o reator foi removido do forno, deixado a arrefecer à temperatura ambiente e pesou-se o *biochar*.

O programa de temperaturas usado para a produção do *biochar* foi o seguinte: a temperatura subiu a uma taxa de 10 °C/min até aos 450 °C, onde se manteve até ao final do processo. O processo demorou cerca de 112 minutos na totalidade.

As quantidades de amostra anterior e posterior ao processo de pirólise e a perda de massa da amostra estão apresentadas na Tabela 2.3. A determinação da perda de massa de produção do *biochar* baseou-se na seguinte equação:

$$Perda\ de\ massa[\%] = \frac{massa\ de\ amostra\ inicial[g] - massa\ de\ amostra\ final[g]}{massa\ de\ amostra\ inicial[g]} * 100[\%] \quad (Equação\ 2-1)$$

**Tabela 2.3-** Características do *biochar* produzido.

Massa de amostra inicial [g]	Massa de amostra final [g]	Perda de massa [%]
111,3025	36,2410	67,44

## 2.4. Instalação experimental

### 2.4.1. Reatores descontínuos

Os ensaios descontínuos foram realizados em reatores de vidro (Figura 2.2). Cada um consistia num frasco cilíndrico de vidro com um volume nominal de 250 mL, equipados com uma tampa roscada que possuía duas aberturas. Numa das aberturas foi colocado um tubo que encaminhava o biogás para um saco de plástico que servia para armazenar o biogás, e na outra foi colocado um septo para recolher amostras de biogás com o auxílio de uma seringa para posteriormente se proceder à análise do seu conteúdo em termos de  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ .



**Figura 2.2-** Fotografia de um reator descontínuo utilizado no trabalho experimental.

A temperatura dos reatores foi mantida a  $35^\circ\text{C}$  através da sua colocação em banho maria aquecido por termostato (Figura 2.3). A agitação foi realizada manualmente, duas a três vezes por dia, sendo aplicada uma agitação apenas o suficiente para colocar a mistura em suspensão.



**Figura 2.3-** Fotografia da montagem experimental dos reatores descontínuos.

Com uma seringa graduada de 100 mL retirava-se o biogás do reservatório, sabendo-se assim o volume de biogás gerado. No septo realizava-se a amostragem do biogás para posteriormente proceder à análise do seu conteúdo em termos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>.

## 2.4.2. Reatores UASB

O sistema era constituído por 2 reatores UASB semelhantes, ambos construídos em acrílico, com uma altura de 85,0 cm e um volume útil de 6,0 litros (Figura 2.4). Estruturalmente, os reatores eram constituídos por duas partes: compartimento de digestão e compartimento de sedimentação. No compartimento de digestão encontrava-se o leito de lamas, o manto de lamas e o separador GSL. Este compartimento era revestido por um tubo onde circulava água a 35°C ligada a um banho termoestabilizado. Ao longo da altura do exterior do compartimento de digestão existiam 4 aberturas onde era possível realizar amostragens do interior do reator. No compartimento de sedimentação do reator existiam dois orifícios por onde ocorria a saída do efluente tratado e a saída do biogás gerado. No Anexo 6.1 pode ser consultada uma descrição mais detalhada das características dos reatores UASB.

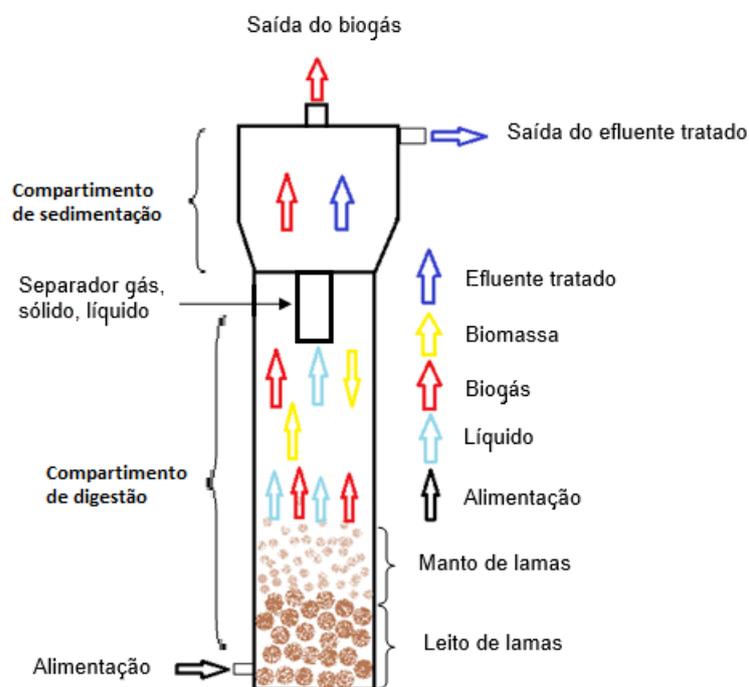
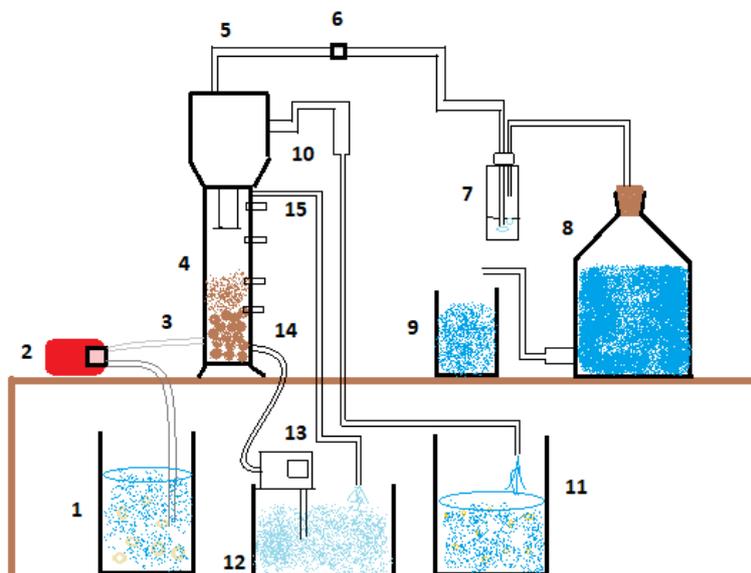


Figura 2.4- Esquema dos reatores UASB utilizados no trabalho experimental.

A alimentação foi realizada a partir da base dos reatores com o auxílio de uma bomba peristáltica WatsonMarlow® 101UR para cada reator, previamente calibradas de acordo com o caudal desejado. O procedimento e os resultados das calibrações das bombas peristálticas podem ser consultados no Anexo 6.2. A saída do efluente tratado fez-se através de um sifão situado na lateral do compartimento de sedimentação e a saída do biogás realizou-se por um orifício localizado no topo do compartimento de sedimentação. Depois de abandonar o reator, o biogás era encaminhado para um borbulhador e depois para um frasco de *Mariotte* com 10 litros de água. O biogás gerado criava pressão dentro do frasco de *Mariotte*, forçando a água a sair do seu interior e a cair dentro de uma proveta graduada. O volume de biogás gerado era igual ao volume de água na proveta graduada. Na tubagem que ligava o compartimento de sedimentação ao borbulhador de cada reator existia um septo, no qual era possível realizar a amostragem do biogás com o auxílio de uma seringa para posteriormente proceder à análise do seu conteúdo em termos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. O efluente tratado era encaminhado para um recipiente. Quando o recipiente com alimentação terminava, a alimentação passava a ser feita no recipiente que recebeu o efluente tratado, ou seja, os reatores passavam a operar em modo descontínuo com recirculação.

O esquema da montagem experimental dos reatores UASB encontra-se ilustrado na Figura 2.5.



**Figura 2.5-** Esquema da montagem experimental dos reatores UASB.

Legenda da Figura 2.5:

- 1- Reservatório com alimentação;
- 2- Bomba peristáltica WatsonMarlow® 101UR;
- 3- Entrada da alimentação no reator;
- 4- Reator UASB;

- 5- Saída do biogás do reator;
- 6- Septo para amostragens de biogás;
- 7- Borbulhador;
- 8- Frasco de *Mariotte*;
- 9- Proveta graduada;
- 10- Saída do efluente tratado do reator;
- 11- Reservatório do efluente tratado;
- 12- Banho termostaticado;
- 13- Termostato;
- 14- Entrada da água aquecida a 35°C;
- 15- Saída da água aquecida.

As amostragens para a determinação dos parâmetros foram realizadas no ponto 1 e no local 10 da Figura 2.5. A amostragem da biomassa dos reatores foi realizada na abertura mais abaixo no reator que permitia acesso ao seu interior.

## **2.5. Condições de operação**

### **2.5.1. 1ª fase – Sinergismos entre a carga orgânica, SSV e alcalinidade**

Com o desenvolvimento da bateria de ensaios a seguir descrita (1ª fase), pretendeu-se avaliar os sinergismos entre a carga orgânica, o teor de SSV e a concentração de alcalinidade na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade e a contribuição para o processo de cada um destes parâmetros. Face ao número de variáveis independentes a estudar (carga orgânica, SSV e alcalinidade) o modelo de planeamento experimental adotado foi o Delineamento Composto Centro Rotacional (DCCR). Caso não se adotasse este modelo, seria necessário um elevado número de ensaios. Este modelo permite reduzir o número de ensaios e ajustar modelos de superfície de resposta resultantes de métodos matemáticos e estatísticos usados na modelização e análise de problemas onde as variáveis dependentes sofrem a influência de diversos parâmetros (Rodrigues and lemma, 2014).

Para este modelo, considerando  $k$  como sendo o número de variáveis independentes em estudo, o número de ensaios total inclui  $2^k$  ensaios referentes a pontos fatoriais,  $2k$  ensaios referentes a pontos axiais e um número de pontos centrais igual ou superior ao número de variáveis. Portanto, neste caso como o número de variáveis de influência é igual a 3, o número total de ensaios são 17,

sendo que 8 são referentes a pontos fatoriais, 6 a pontos axiais e 3 a pontos centrais.

De acordo com as gamas que se enquadraram na literatura, as gamas selecionadas das variáveis a estudar foram as seguintes: 4 a 8 gCQO/L para a carga orgânica, 6 a 12 gSSV/L para a concentração de SSV e 0,81 a 3,19 gKHCO<sub>3</sub>/L para a concentração de alcalinidade. Por aplicação do modelo DCCR, a matriz de delineamento obtida está representada na seguinte tabela.

**Tabela 2.4-** Matriz de delineamento dos ensaios descontínuos da 1ª fase.

Pontos	Axiais	Fatoriais	Centrais	Fatoriais	Axiais
CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	2,64	4,00	6,00	8,00	9,36
SSV <sub>biomassa</sub> [g/L]	3,96	6,00	9,00	12,00	14,04
Alcalinidade [gKHCO <sub>3</sub> /L]	0,00	0,81	2,00	3,19	4,00
Delineamento	-1,68	-1,00	0,00	1,00	1,68

Todos os ensaios foram realizados em modo descontínuo, com um volume de fase líquida de 200 mL. Em cada reator foi colocado soro de leite, biomassa e alcalinidade de acordo com as concentrações determinadas através do modelo DCCR, bem como uma solução de macronutrientes e outra de micronutrientes, numa concentração de 1 e 2 mL por cada litro de reator, respetivamente (Tabela 2.5 e Tabela 2.6). Os procedimentos de preparação da solução de alcalinidade e das soluções dos nutrientes podem ser consultados no Anexo 6.3 e no Anexo 6.4, respetivamente. Finalmente, foi adicionada água destilada para perfazer o volume de 200 mL. Antes da incubação, os reatores foram purgados com uma corrente de azoto durante 60 segundos para remover todo o oxigénio e garantir condições anaeróbias no seu interior, e seguidamente selados. Os reatores foram incubados durante cerca de 25 dias a 35 °C através da sua colocação em banho maria aquecido por termostato.

A agitação foi realizada manualmente, duas a três vezes por dia, tendo sido aplicada uma agitação apenas o suficiente para colocar a mistura em suspensão.

**Tabela 2.5-** Matriz operacional da bateria de ensaios da 1ª fase do trabalho experimental.

Referência do ensaio	CQO [gO <sub>2</sub> /L]	SSV [gSSV/L]	Alcalinidade [gKHCO <sub>3</sub> /L]	Micronutrientes [mL/L]	Macronutrientes [mL/L]
1	4,00	6,00	0,81	2,00	1,00
2	8,00	6,00	0,81		
3	4,00	12,00	0,81		
4	8,00	12,00	0,81		
5	4,00	6,00	3,19		
6	8,00	6,00	3,19		
7	4,00	12,00	3,19		
8	8,00	12,00	3,19		
9	2,64	9,00	2,00		
10	9,36	9,00	2,00		
11	6,00	3,96	2,00		
12	6,00	14,04	2,00		
13	6,00	9,00	0,00		
14	6,00	9,00	4,00		
15	6,00	9,00	2,00		
16	6,00	9,00	2,00		
17	6,00	9,00	2,00		

**Tabela 2.6-** Matriz operacional da bateria de ensaios da 1ª fase do trabalho experimental.

Referência do ensaio	V <sub>soro</sub> <sup>a</sup> [mL]	V <sub>lomas</sub> <sup>b</sup> [mL]	V <sub>alcalinidade</sub> <sup>c</sup> [mL]	V <sub>micronutrientes</sub> [mL]	V <sub>macronutrientes</sub> [ml]	V <sub>água</sub> [mL]
1	7,00	51,50	1,60	0,40	0,20	139,30
2	13,90	51,50	1,60			132,40
3	7,00	103,00	1,60			87,80
4	13,90	103,00	1,60			80,90
5	7,00	51,50	6,40			134,60
6	13,90	51,50	6,40			127,60
7	7,00	103,00	6,40			83,10
8	13,90	103,00	6,40			76,10
9	4,60	77,30	4,00			113,60
10	16,30	77,30	4,00			101,90
11	10,40	34,00	4,00			151,00
12	10,40	120,50	4,00			64,50
13	10,40	77,30	0,00			111,70
14	10,40	77,30	8,00			103,70
15	10,40	77,30	4,00			107,70
16	10,40	77,30	4,00			107,70
17	10,40	77,30	4,00			107,70

<sup>a</sup>Solução de 115,69 gCQO/L; <sup>b</sup>Solução de 21,63 gSSV/L; <sup>c</sup>Solução de 100,00 gKHCO<sub>3</sub>/L

Realizaram-se amostragens do conteúdo dos reatores no arranque e no final do período de incubação. As amostras foram analisadas em termos dos seguintes parâmetros: CQO<sub>total</sub>, CQO<sub>solúvel</sub>, SST, SSV, AOV, pH e condutividade.

### **2.5.2. 2ª fase – Adaptabilidade da biomassa**

Findada a primeira fase, repetiram-se os 6 ensaios que mostraram uma melhor performance (eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização). Os ensaios repetidos foram os ensaios 4, 8, 9, 10, 15 e 17. A metodologia de operação destes reatores foi igual à da primeira fase, tirando o facto que a biomassa foi reutilizada, e por isso, foi necessário decantar o sobrenadante dos reatores da 1ª fase após um período de sedimentação de 48 horas, caracterizar a biomassa (sedimentado) em termos de SST e SSV, colocar no reator a quantidade de biomassa necessária, juntamente com o volume de soro, da solução de alcalinidade e das soluções de nutrientes necessários (Tabela 2.6). A repetição destes ensaios visava avaliar a adaptabilidade da biomassa.

### **2.5.3. 3ª fase – Influência do *biochar* e da sua granulometria**

Foram realizados 4 ensaios descontínuos com o intuito de avaliar a influência do *biochar* e da sua granulometria na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite. Os ensaios foram realizados em modo descontínuo, com um volume de fase líquida de 200 mL. Em cada reator foi colocado soro de leite, biomassa, solução de alcalinidade, solução de macronutrientes e solução de micronutrientes, numa concentração de 1 e 2 mL por cada litro de reator, respetivamente. Os procedimentos de preparação da solução de alcalinidade e das soluções dos nutrientes podem ser consultados no Anexo 6.3 e no Anexo 6.4, respetivamente. Em dois dos reatores foi ainda adicionado *biochar* (1,00 a 2 mm e < 1 mm) e os outros dois serviram como controlo. De acordo com os valores que se enquadraram na literatura, decidiu-se aplicar uma concentração de 5 g/L de *biochar*. Finalmente, foi adicionada água destilada para perfazer o volume de 200 mL. Antes da incubação, os reatores foram purgados com uma corrente de azoto durante 60 segundos para remover todo o oxigénio e garantir condições anaeróbias no seu interior, e seguidamente selados. Os reatores foram incubados durante cerca de 25 dias a 35 °C através da sua colocação em banho maria aquecido por termostato. A agitação foi realizada manualmente, duas a três vezes por dia, tendo sido aplicada uma agitação apenas o suficiente para colocar a mistura em suspensão.

Nas Tabelas 2.7 e 2.8 estão reunidas as condições de operação e as quantidades de cada componente do conteúdo dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.

**Tabela 2.7-** Matriz operacional da bateria dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.

Referência do ensaio	CQO [gO <sub>2</sub> /L]	SSV [gSSV/L]	Alcalinidade [gKHCO <sub>3</sub> /L]	Micronutrientes [mL/L]	Macronutrientes [mL/L]	Biochar	
						Massa [g]	Granulometria [mm]
A	8,00	12,00	0,81	2,00	1,00	--	--
B						1	1,00 a 2,00
C						1	< 1,00
D						--	--

**Tabela 2.8-** Matriz operacional da bateria dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.

Referência do ensaio	V <sub>soro</sub> <sup>a</sup> [mL]	V <sub>lamas</sub> <sup>b</sup> [mL]	V <sub>alcalinidade</sub> <sup>c</sup> [mL]	V <sub>micronutrientes</sub> [mL]	V <sub>macronutrientes</sub> [ml]	V <sub>água</sub> [mL]	Biochar	
							Massa [g]	Granulometria [mm]
A	13,90	100,60	1,60	0,40	0,20	83,20	--	--
B	13,90	100,60	1,60			83,20	1	1,00 a 2,00
C	13,90	100,60	1,60			83,20	1	< 1,00
D	13,90	100,60	1,60			83,20	--	--

<sup>a</sup>Solução de 115,69 gCQO/L; <sup>b</sup>Solução de 23,85 gSSV/L; <sup>c</sup>Solução de 100,00 gKHCO<sub>3</sub>/L

#### 2.5.4. 4ª fase – Viabilidade dos reatores UASB

Com a operação dos reatores UASB pretendeu-se estudar a viabilidade do processo de digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores UASB com e sem *biochar*.

Por razões de disponibilidade de efluente, os reatores operaram em modo descontínuo com recirculação. Em termos práticos significa que a alimentação e a saída do efluente tratado eram efetuadas no mesmo recipiente. No entanto, sempre que se iniciava um novo ciclo, optou-se por fazer com que toda a alimentação passasse pelo interior do reator e só depois passasse a operar em modo descontínuo com recirculação. Desta forma, evitava-se que a gordura ficasse na superfície do líquido, e assim pelo menos uma vez todo o líquido passava pelo interior do reator.

No final de cada ensaio, a biomassa dos recipientes era decantada e reintroduzida no interior dos reatores.

Durante a atividade experimental os reatores foram mantidos a uma temperatura mesófila (35 °C).

Ao longo da operação dos reatores UASB, o tempo de retenção hidráulico, o caudal e a velocidade ascensional aplicados foram constantes e correspondiam

a 12 horas, 0,5 L/h e 0,071 m/h, respetivamente. Ambos os reatores operaram a 5 valores de carga orgânica diferentes (4, 8, 10, 12 e 14 gCQO/L) durante o mesmo período. Ambos os reatores iniciaram a operação pela carga orgânica mais baixa, e posteriormente, foi-se aumentando gradualmente a carga orgânica aplicada.

A Tabela 2.9 resume as condições operacionais aplicadas em cada ciclo.

**Tabela 2.9-** Condições de operação dos reatores UASB.

Ciclo	TRH [h]	Caudal [L/h]	Velocidade ascensional [m/h]	Temperatura [°C]	SSV [mg/L]	CQO da alimentação [gO <sub>2</sub> /L]	Carga orgânica volúmica [gO <sub>2</sub> /L.d]	Duração do ciclo [d]
I	12	0,50	0,071	35	12,00	4,00	8,00	10
II						8,00	16,00	12
III						8,00	16,00	7
IV						4,00	8,00	6
V						8,00	16,00	7
VI						8,00	16,00	7
VII						10,00	20,00	7
VIII						12,00	24,00	7
IX						14,00	28,00	10

Entre o ciclo III e o ciclo IV os reatores estiveram parados durante um período de 20 dias, correspondente ao período de encerramento dos serviços e unidades da Universidade de Aveiro para férias, e por isso, após esse período decidiu-se reiniciar os reatores com uma carga orgânica mais reduzida.

Atendendo a que são necessários 12 L de alimentação para atingir um valor de TRH=12 h, a alimentação foi preparada num recipiente contendo o volume pré-definido de soro de leite de acordo com a carga orgânica aplicada, solução de alcalinidade sob a forma de KHCO<sub>3</sub>, solução de micronutrientes, solução de macronutrientes e água da rede pública para perfazer o volume total de 12 L. Os procedimentos de preparação da solução de alcalinidade e das soluções dos nutrientes podem ser consultados no Anexo 6.3 e no Anexo 6.4, respetivamente.

A constituição das alimentações preparadas pode ser consultada na Tabela 2.10.

**Tabela 2.10-** Constituição das alimentações dos reatores UASB.

Ensaio	CQO [gO <sub>2</sub> /L]	V <sub>soro</sub> <sup>a</sup> [ml]	Alcalinidade [gKHCO <sub>3</sub> /L]	V <sub>alcalinidade</sub> <sup>b</sup> [mL]	Micronutrientes [mL/L]	V <sub>micronutrientes</sub> [mL]	Macronutrientes [mL/L]	V <sub>macronutrientes</sub> [mL]	V <sub>água</sub> [mL]
I	4,00	420	2,00	240,00	2,00	24,00	1,00	12,00	11 300
I	8,00	840							10 900
III	8,00	840							10 900
IV	4,00	420							11 300
V	8,00	840							10 900
VI	8,00	840							10 900
VII	10,00	1 050							10 700
VIII	12,00	1 250							10 500
IX	14,00	1 450							10 300

<sup>a</sup>Solução de 115,69 gCQO/L; <sup>b</sup>Solução de 100,00 gKHCO<sub>3</sub>/L

De acordo com as gamas que se enquadravam na literatura, foram adicionadas 30 gramas de *biochar* de casca de pinhão de pinheiro manso num dos reatores UASB, perfazendo uma concentração de 5 g/L. A granulometria do *biochar* era de < 2,00 mm.

O comportamento dos reatores foi avaliado através da monitorização dos seguintes parâmetros físico-químicos: CQO<sub>total</sub>, CQO<sub>solúvel</sub>, SST, SSV, AOV, condutividade, produção e composição do biogás.

## 2.6. Parâmetros de monitorização físico-químicos

### 2.6.1. pH e condutividade

O pH refere-se ao potencial de hidrogénio e representa uma escala numérica adimensional que indica a acidez, neutralidade ou basicidade de uma solução aquosa.

A condutividade é a capacidade que um corpo tem em conduzir eletricidade. A condutividade é uma forma indireta de medir a salinidade, visto que os sais que se dissolvem numa solução aquosa dão origem a iões que contribuem para a condutividade elétrica.

Estes parâmetros foram medidos através de um medidor Consort® C-515. Para o pH utilizou-se um elétrodo de xerolite e para a condutividade usou-se um elétrodo de grafite.

Para a medição destes parâmetros, mergulhava-se o respetivo elétrodo na amostra, agitava-se suavemente e quando o valor exibido no ecrã do medidor era estável, registava-se. Os elétrodos eram devidamente lavados com água destilada e secos com papel entre amostras.

A calibração do medidor foi realizada cerca de 15 em 15 dias. Para a calibração do pH usavam-se dois padrões (pH=4 e pH=7) e para a calibração da condutividade elétrica usava-se uma solução com uma condutividade de 1413  $\mu\text{s}/\text{cm}$ .

### **2.6.2. Sólidos suspensos totais (SST) e Sólidos suspensos voláteis (SSV)**

Os sólidos suspensos totais correspondem à matéria orgânica e inorgânica em suspensão na amostra. Os sólidos suspensos voláteis representam a quantidade de matéria orgânica em suspensão na amostra. Considera-se que os SSV fornecem uma estimativa da quantidade de microrganismos na amostra.

Para determinar os SST e os SSV adotaram-se, respetivamente, os protocolos 2540 D e 2540 E do *Standard Methods* (APHA, 1998).

Filtros de microfibras de vidro (Specanalítica®, diâmetro de 47mm; tamanho do poro de 1,2 $\mu\text{m}$ ) foram previamente calcinados em cadinhos de porcelana durante 1 hora a 550°C. Após arrefecimento à temperatura ambiente num exsiccador, procedeu-se à medição da massa de cada filtro e respetivo cadinho ( $m_{\text{cadinho+filtro}}$ ) numa balança analítica Precisa® XB 120 e ao seu registo. Usando os filtros calcinados, procedeu-se à filtração por vácuo de um volume de amostra conhecido (volume filtrado). Seguidamente, os filtros com sólidos retidos resultantes da filtração são levados a secar à estufa durante 24 horas a 105°C nos respetivos cadinhos. Após arrefecimento à temperatura ambiente num exsiccador,

procedeu-se à medição e registo da massa ( $m_{\text{após estufa}}$ ). Para a determinação dos SST utilizou-se a seguinte equação:

$$SST \left[ \frac{g}{L} \right] = \frac{(m_{\text{após estufa}})[g] - (m_{\text{cadinho+filtro}})[g]}{\text{volume filtrado [L]}} \quad (\text{Equação 2-2})$$

Para a determinação do teor de SSV, os cadinhos com os filtros foram colocados na mufla a 550°C durante um período de 2 horas. Seguidamente, mediu-se e registou-se a massa de cada cadinho e respetivo filtro após arrefecimento em exsiccador até à temperatura ambiente ( $m_{\text{mufla}}$ ). A determinação dos SSV baseou-se na seguinte equação:

$$SSV \left[ \frac{g}{L} \right] = \frac{(m_{\text{após estufa}})[g] - (m_{\text{mufla}})[g]}{\text{volume filtrado [L]}} \quad (\text{Equação 2-3})$$

### 2.6.3. Carência química de oxigénio (CQO)

A carência química de oxigénio reflete a quantidade de poluição orgânica numa dada amostra. Este parâmetro quantifica a matéria orgânica passível de oxidação por meios químicos (tanto matéria orgânica biodegradável como não biodegradável), expressa em termos da quantidade de oxigénio necessário para oxidar a matéria orgânica presente na amostra.

A quantificação da CQO neste trabalho foi realizada recorrendo ao método de refluxo e leitura por espectrofotometria (método 5520 D), descrito no *Standard Methods* (APHA, 1998).

O processo de determinação da CQO teve início com a colocação da solução de digestão da amostra em frascos de vidro. Esta solução era constituída por 1,5 mL de dicromato de potássio com sulfato de mercúrio e 3,5 mL de ácido sulfúrico com sulfato de prata. Preparada a solução, eram transferidos 2,5 mL de amostra para os frascos de vidro, seguindo-se a sua digestão durante 2 horas a 150°C. As soluções de reagentes foram preparadas segundo o método 5520 D, descrito no *Standard Methods* (APHA, 1998), e a sua preparação é descrita no Anexo 6.5. Por fim, procedeu-se à medição da CQO das amostras digeridas através de um espectrofotómetro Aqualytic® PC023212. O espectrofotómetro convertia a absorbância em CQO [ $\text{mgO}_2/\text{L}$ ].

A gama de medição deste método varia entre 100 e 900 [ $\text{mgO}_2/\text{L}$ ], por isso, por vezes, foi necessário proceder à diluição das amostras.

A determinação dos valores da CQO<sub>solúvel</sub> foi em tudo igual ao anteriormente descrito, apenas com a diferença de a amostra ter sido previamente filtrada com filtros de microfibras de vidro (Specanalítica®; diâmetro de 47mm; tamanho do poro de 1,2mm).

Para a determinação da CQO do conteúdo dos reatores descontínuos, a amostra foi colocada previamente a centrifugar durante 10 minutos a 10 000 [rotações/min].

Em todas as análises da CQO foram realizadas três réplicas.

#### 2.6.4. Ácidos orgânicos voláteis (AOV)

O processo de determinação do teor de ácidos orgânicos voláteis começou pela filtração da amostra usando filtros de microfibras de vidro (Specanalítica®; diâmetro de 47mm; tamanho do poro de 1,2mm). Da amostra filtrada transferiu-se 1 mL para um frasco de polietileno, juntamente com 0,25 mL de ácido fórmico (1:10 (v/v)). Até serem analisadas as amostras foram mantidas a 4°C.

O equipamento usado para determinar o teor de AOV presentes em cada amostra foi um cromatógrafo PerkinElmer® Clarus 480, munido com detetor de ionização de chama (FID) e uma coluna SGE® (25 m x 0,53 mm) ID-BPI 5,0 µm. A aquisição e análise dos dados foi feita através do software de integração TotalChrom Navigator®. A Tabela 2.11 reúne os parâmetros de operação do cromatógrafo.

**Tabela 2.11-** Parâmetros de operação do cromatógrafo PerkinElmer® Clarus 480.

Parâmetro	Características
Tipo e caudal dos gases	Hélio (gás de arraste); Q = 8 mL/min Azoto (gás de make-up); Q = 30 mL/min Hidrogénio (gás de chama); Q = 30 mL/min Ar constituído (gás de chama); Q = 30 mL/min
Características da coluna	SGE® (25 m x 0,53 mm) ID-BPI 5,0 µm
Temperatura	Detetor – 240 °C Coluna – 70 °C Injetor – 300 °C Forno – 70 °C
Software de análise	TotalChrom Navigator®
Tempo de análise	18,0 minutos
Volume de amostra	0,5 µL

O programa de temperaturas usado para a eluição das amostras foi o seguinte: o arranque deu-se durante 1 minuto a 70 °C. Nos 1,5 minutos subsequentes, deu-se um aumento constante da temperatura até aos 100 °C, mantendo-se neste valor durante 0,5 minutos. De seguida, a temperatura subiu a

uma taxa de 10 °C/min até aos 140 °C, onde se manteve durante um minuto. No final ocorreu um aumento de 35 °C por minuto até aos 235°C.

Os AOV analisados foram os ácidos acético, propiónico, i-butírico, n-butírico, i-valérico, n-valérico e n-capróico. Tendo em conta o tempo de retenção de cada ácido, por meio de inspeção visual, fez-se a diferenciação dos picos. Através de uma equação do tipo  $y=mx+b$ , converteu-se a área de cada pico em concentração. O tempo de retenção e a equação para cada ácido encontram-se no Anexo 6.6.

É possível converter a quantidade de ácido ( $mg_{\text{ácido}}/L$ ) em CQO ( $mgO_2/L$ ) através de um fator que relaciona a concentração de ácido com a CQO de cada ácido (Equação 2-4). O fator denomina-se de *Theoretical Oxygen Demand* (TOD) e o valor para cada AOV pode ser consultado no Anexo 6.7.

$$\text{Concentração}_{\text{ácido}} \left( \frac{mg_{CQO}}{L} \right) = \text{Concentração}_{\text{ácido}} \left( \frac{mg_{\text{ácido}}}{L} \right) * TOD \left( \frac{mg_{CQO}}{mg_{\text{ácido}}} \right) \quad (\text{Equação 2-4})$$

A conversão da concentração de AOV expressa em mg ácido acético/L foi realizada através da Equação 2-5.

$$\text{Concentração}_{\text{ácido}_i} \left( \frac{mg_{\text{ácido acético}}}{L} \right) = \frac{\text{Concentração}_{\text{ácido}_i} \left( \frac{mg_{\text{ácido}_i}}{L} \right) * \text{Massa molar}_{\text{ácido acético}} \left( \frac{g}{mol} \right)}{\text{Massa molar}_{\text{ácido}_i} \left( \frac{g}{mol} \right)} \quad (\text{Equação 2-5})$$

## 2.6.5. Composição do biogás

A composição do biogás produzido em termos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, foi determinada através de um processo de cromatografia gasosa usando um cromatógrafo SRI® 8610C, munido com detetor de condutividade térmica e coluna de enchimento Haysep® (2,5 m \* 2,1 mm) a cerca de 60-61 °C. Como gás de arraste utilizou-se hélio com um caudal de 10 mL/min. A aquisição de dados foi realizada através do *software* de integração PeakSimple®. A análise do conteúdo do biogás durava 5 minutos e a quantidade de cada amostra analisada foi de 2 mL. Na Tabela 2.12 estão descritas as condições de operação do cromatógrafo.

**Tabela 2.12-** Parâmetros de operação do cromatógrafo SRI® 8610C.

Parâmetro	Características
Gás de arraste; caudal	Hélio; Q = 10 mL/min
Temperatura	60-61 °C
<i>Software</i> de integração	PeakSimple®
Tempo de análise	5 minutos
Volume de amostra	2 mL

Tendo em conta o tempo de retenção de cada gás, por meio de inspeção visual, fez-se a diferenciação dos picos. A conversão da área de cada pico em percentagem volumétrica foi realizada através das equações resultantes da calibração do cromatógrafo (Equação 2-6 e Equação 2-7). Para a calibração do cromatógrafo foram utilizados três padrões gasosos de concentração conhecida: um constituído por 100 % de CO<sub>2</sub>, outro por 100 % de CH<sub>4</sub> e outro por uma mistura de 70 % de CH<sub>4</sub> e 30 % de CO<sub>2</sub>. A calibração consistiu na injeção dos padrões gasosos e na sua correlação com a área de cada componente.

$$\%CH_4 = 0,9896 * \left( \frac{\text{Área}_{CH_4}}{\text{Área}_{total}} \right) * 100\% \quad (\text{Equação 2-6})$$

$$\%CO_2 = 0,9924 * \left( \frac{\text{Área}_{CO_2}}{\text{Área}_{total}} \right) * 100\% \quad (\text{Equação 2-7})$$

## 2.7. Cálculos efetuados no tratamento de dados

### 2.7.1. Reatores descontínuos

#### 2.7.1.1. Preparação da alimentação

A determinação do volume de soro de leite, de inóculo e de alcalinidade a adicionar em cada reator descontínuo baseou-se na seguinte equação:

$$Conc_{inicial} \left[ \frac{mg_i}{L} \right] * V_{inicial} [L] = Conc_{final} \left[ \frac{mg_i}{L} \right] * V_{final} [L] \quad (\text{Equação 2-8})$$

Em que para o caso do soro de leite,

$Conc_{inicial}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO total do soro de leite;

$Volume_{inicial}$  [L] é o volume de soro de leite a adicionar em cada reator;

$CQO_{final}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO total pretendida nos reatores;

$Volume_{final}$  [L] é o volume da fase líquida dos reatores.

Em que para o caso do inóculo,

$Conc_{inicial}$  [mgSSV/L] é o teor de SSV no inóculo utilizado;

$Volume_{inicial}$  [L] é o volume de inóculo a adicionar em cada reator;

$SSV_{final}$  [mgSSV/L] é o teor de SSV pretendido nos reatores;

$Volume_{final}$  [L] é o volume da fase líquida dos reatores.

Em que para o caso da alcalinidade,

$Conc_{inicial}$  [mgKHCO<sub>3</sub>/L] é a concentração da solução de alcalinidade;

$Volume_{inicial}$  [L] é o volume da solução de alcalinidade a adicionar em cada reator;

$Conc_{final}$  [mgKHCO<sub>3</sub>/L] é a concentração de alcalinidade pretendida nos reatores;

$Volume_{final}$  [L] é o volume da fase líquida dos reatores.

### 2.7.1.2. CQO removida

A CQO removida representa a diferença entre a CQO (total ou solúvel) inicial e a CQO (total ou solúvel) final e foi determinada através da seguinte equação:

$$CQO_{removida}[g] = \left( CQO_{inicial} \left[ \frac{mgO_2}{L} \right] - CQO_{final} \left[ \frac{mgO_2}{L} \right] \right) * V_{reator}[L] \quad (\text{Equação 2-9})$$

Em que para o caso da CQO total,

$CQO_{inicial}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO total no reator no início do período de incubação;

$CQO_{final}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO total no reator no final do período de incubação;

$V_{reator}$  [L] é o volume da fase líquida dos reatores *batch*.

Em que para o caso da CQO solúvel,

$CQO_{inicial}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO solúvel no reator no início do período de incubação;

$CQO_{final}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO solúvel no reator no final do período de incubação;

$V_{reator}$  [L] é o volume da fase líquida dos reatores *batch*.

A eficiência de remoção da CQO foi realizada através da seguinte equação:

$$\text{Eficiência de remoção da CQO} [\%] = \frac{CQO_{inicial} \left[ \frac{mgO_2}{L} \right] - CQO_{final} \left[ \frac{mgO_2}{L} \right]}{CQO_{inicial} \left[ \frac{mgO_2}{L} \right]} * 100\% \quad (\text{Equação 2-10})$$

Em que para o caso da CQO total,

$CQO_{inicial}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO total no reator no início do período de incubação;

$CQO_{final}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO total no reator no final do período de incubação.

Em que para o caso da CQO solúvel,

$CQO_{inicial}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO solúvel no reator no início do período de incubação;

$CQO_{final}$  [mgO<sub>2</sub>/L] é a CQO solúvel no reator no final do período de incubação;

### 2.7.1.3. Eficiência de metanização

A eficiência de metanização representa a percentagem de CQO removida que deu origem a CH<sub>4</sub>.

Para o cálculo da eficiência de metanização, inicia-se por determinar um fator que relaciona a quantidade de metano em moles com o volume de metano através da equação da Lei dos Gases Perfeitos (Equação 2-11).

$$P [atm] * V[L] = n[moles] * R \left[ \frac{L.atm}{K.moles} \right] * T[K] \quad (\text{Equação 2-11})$$

Em que,

P [atm] é a pressão atmosférica;

V [L] é o volume de metano;

n [moles] é o número de moles de metano;

R [L.atm/K.moles] é a Constante Universal dos Gases Perfeitas;

T [K] é a temperatura ambiente;

Sabendo que a temperatura ambiente correspondeu a 20 °C, aplicando a equação anterior obteve-se:

$$\frac{n [moles]}{V [L]} = \frac{1[atm]}{0,082057 \left[ \frac{L.atm}{K.mol} \right] * (20+273)[K]} = 0,0416 \left[ \frac{moles CH_4}{L CH_4} \right] \quad (\text{Equação 2-12})$$

Atendendo à estequiometria da seguinte reação determinou-se a massa de CQO convertida em metano.



Como se pode constatar através da Reação 2-1, por cada mole de CH<sub>4</sub> são necessárias 2 moles de O<sub>2</sub>. Por conversão de moles para massa, verifica-se que são necessárias 64 gramas de O<sub>2</sub> por cada mol de CH<sub>4</sub> (Equação 2-13).

$$\frac{2 \text{ moles } O_2}{1 \text{ moles } CH_4} * 2 * \text{Massa molar } O \left[ \frac{gramas O}{moles O} \right] = 2 * 2 * 16 = 64 \left[ \frac{gramas O_2}{moles CH_4} \right] \quad (\text{Equação 2-13})$$

Assim sendo, a massa de CQO convertida a metano pode ser dado pela seguinte equação:

$$m_{CQO(CH_4)}[\text{gramas } O_2] = 0,0416 \left[ \frac{\text{moles } CH_4}{L \text{ } CH_4} \right] * 64 \left[ \frac{\text{gramas } O_2}{\text{moles } CH_4} \right] * V_{CH_4} [L \text{ } CH_4] \quad (\text{Equação 2-14})$$

Em que,

$m_{CQO(CH_4)}$  [gramas  $O_2$ ] é a massa de CQO convertida em metano;

$V_{CH_4}$  [L  $CH_4$ ] é o volume de metano gerado.

A eficiência de metanização foi determinada pela seguinte expressão:

$$\text{Eficiência metanização } [\%] = \left( \frac{m_{CQO(CH_4)}[\text{gramas } O_2]}{CQO_{removida}[\text{gramas } O_2]} \right) * 100\% \quad (\text{Equação 2-15})$$

## 2.7.2. Reatores UASB

### 2.7.2.1. Preparação da alimentação

A determinação do volume de soro de leite e da solução da alcalinidade a adicionar em cada alimentação, bem como a quantidade de inóculo a adicionar em cada reator baseou-se na Equação 2-8, já apresentada anteriormente.

$$Conc_{inicial} \left[ \frac{mg_i}{L} \right] * V_{inicial} [L] = Conc_{final} \left[ \frac{mg_i}{L} \right] * V_{final} [L] \quad (\text{Equação 2-8})$$

Em que para o caso do soro de leite,

$Conc_{inicial}$  [ $mgO_2/L$ ] é a CQO total do soro de leite;

$V_{inicial}$  [L] é o volume de soro de leite a adicionar em cada alimentação;

$Conc_{final}$  [ $mgO_2/L$ ] é a CQO total pretendida na alimentação;

$V_{final}$  [L] é o volume de alimentação.

Em que para o caso da alcalinidade,

$Conc_{inicial}$  [ $mgKHCO_3/L$ ] é a concentração da solução de alcalinidade na forma de  $KHCO_3$ ;

Volume<sub>inicial</sub> [L] é o volume da solução de alcalinidade a adicionar em cada alimentação;

Conc<sub>final</sub> [mgKHCO<sub>3</sub>/L] é a concentração de alcalinidade na forma de KHCO<sub>3</sub> pretendida na alimentação;

Volume<sub>final</sub> [L] é o volume de alimentação.

Em que para o caso do inóculo,

Conc<sub>inicial</sub> [mgSSV/L] é o teor de SSV no inóculo utilizado;

Volume<sub>inicial</sub> [L] é o volume de inóculo a adicionar em cada reator;

SSV<sub>final</sub> [mgSSV/L] é o teor de SSV pretendido nos reatores;

Volume<sub>final</sub> [L] é o volume útil dos reatores UASB.

### 2.7.2.2. Tempo de retenção hidráulico (TRH)

O tempo de retenção hidráulico corresponde ao tempo médio de permanência do líquido dentro do reator. O TRH foi calculado através da Equação 2-16, considerando que o caudal da alimentação e da recirculação foram constantes e iguais.

$$TRH [horas] = \frac{\text{Volume do reator [litros]}}{\text{Caudal} \left[ \frac{\text{litros}}{\text{hora}} \right]} \quad (\text{Equação 2-16})$$

### 2.7.2.3. Carga orgânica volúmica (Bv)

A carga orgânica volúmica determina a taxa de matéria orgânica que entra no reator por unidade de volume, num determinado período. A carga orgânica volúmica foi calculada através da seguinte equação:

$$Bv \left[ \frac{gO_2}{L.dia} \right] = \frac{CQO_{\text{alimentação}} \left[ \frac{gO_2}{L} \right] * \text{Caudal} \left[ \frac{L}{h} \right] * 24 \left[ \frac{h}{d} \right]}{\text{Volume do reator [L]}} \quad (\text{Equação 2-17})$$

#### 2.7.2.4. Velocidade ascensional

A velocidade ascensional representa a velocidade com que o líquido atravessa o interior do reator, e foi determinada pela seguinte equação, que o caudal da alimentação e da recirculação foram constantes e iguais:

$$\text{Velocidade ascensional} \left[ \frac{m}{h} \right] = \frac{\text{Caudal} \left[ \frac{m^3}{h} \right]}{\text{Área do leito UASB} [m^2]} \quad (\text{Equação 2-18})$$

#### 2.7.2.5. CQO removida

Para o caso dos reatores UASB, a CQO removida representa a diferença entre a CQO<sub>total</sub> da alimentação e a CQO<sub>solúvel</sub> do efluente tratado. Para a determinação da CQO removida foi necessário determinar primeiro a massa total de CQO alimentada aos reatores e a massa da CQO remanescente recorrendo às Equações 2-19 e 2-20, respetivamente.

$$\text{massa CQO}_{\text{alimentação}} [g] = \text{Volume}_{\text{alimentação}} [L] * \text{CQO}_{\text{alimentação}} \left[ \frac{g}{L} \right] \quad (\text{Equação 2-19})$$

$$\text{massa CQO}_{\text{remanescente}} [g] = \text{CQO}_{\text{solúvel efluente tratado}} \left[ \frac{g}{L} \right] * (\text{Volume}_{\text{alimentação}} [L] + \text{Volume}_{\text{reator}} [L]) \quad (\text{Equação 2-20})$$

Em que,

O volume da alimentação eram 12 litros;

O volume do reator eram 6 litros.

Desta forma, a massa de CQO removida é dada pela seguinte expressão:

$$\text{massa CQO}_{\text{removida}} [g] = \text{massa CQO}_{\text{alimentação}} [g] - \text{massa CQO}_{\text{remanescente}} [g] \quad (\text{Equação 2-21})$$

A determinação da eficiência de remoção da CQO baseou-se na seguinte equação:

$$\text{Eficiência de remoção da CQO} [\%] = \left( \frac{\text{massa CQO}_{\text{removida}} [g]}{\text{massa CQO}_{\text{alimentação}} [g]} \right) * 100\% \quad (\text{Equação 2-22})$$

### **2.7.2.6. Eficiência de metanização**

A determinação da eficiência de metanização para os reatores UASB é igual à metodologia analítica aplicada aos reatores descontínuos (Secção 2.7.1.3).



## **3. Resultados**

Através dos dados analíticos obtidos, foram determinados os seguintes parâmetros de avaliação de desempenho para cada bateria de ensaios: eficiência de remoção da CQO, produção de metano, eficiência de metanização da CQO removida, concentração de AOV. A caracterização da comunidade microbiana desenvolvida também foi parâmetro de avaliação de desempenho dos reatores. Os resultados foram divididos de acordo com os ensaios das quatro fases que compõem o trabalho experimental. A apresentação dos resultados foi realizada, principalmente, na forma de gráficos e tabelas.

### **3.1. 1ª fase – Sinergismos entre a carga orgânica, SSV e alcalinidade**

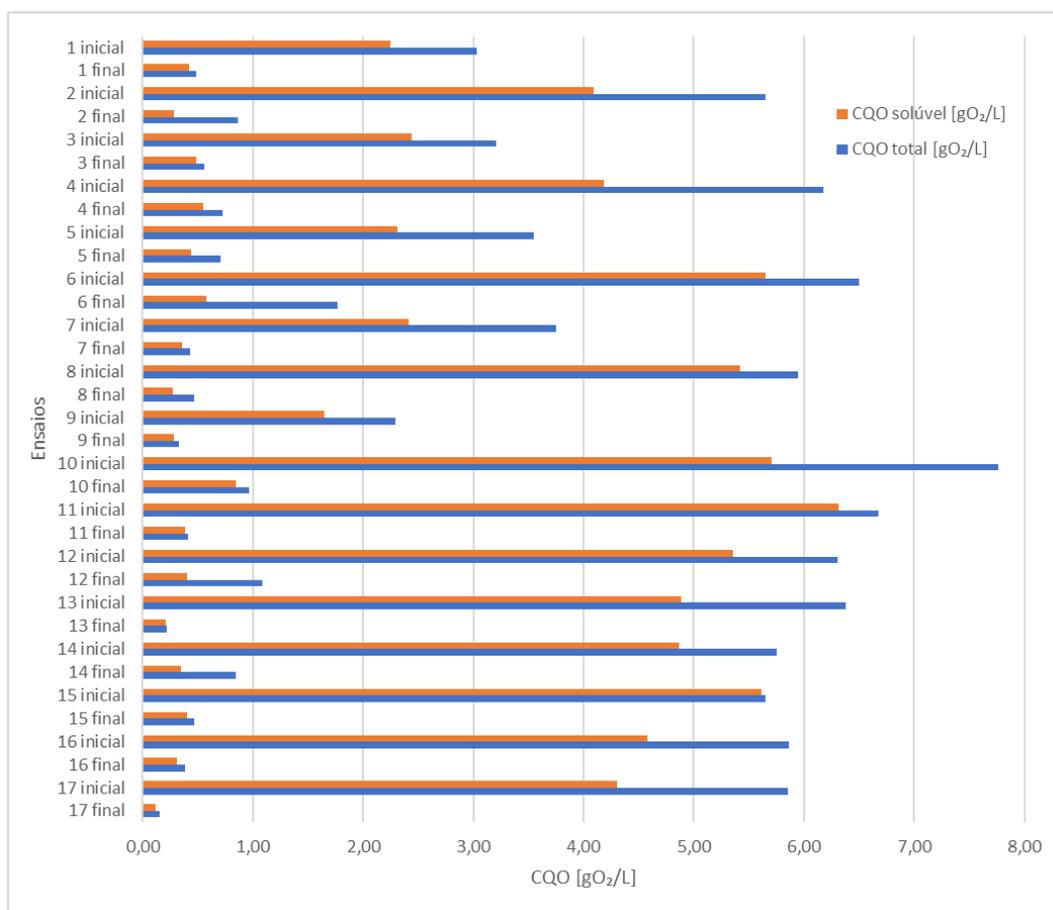
Neste estudo foi realizada uma bateria de 17 ensaios descontínuos com o intuito de estudar os sinergismos entre a carga orgânica, o teor de SSV e a concentração de alcalinidade no desempenho do processo de digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade e a contribuição para o processo de cada um destes parâmetros.

Os reatores foram operados durante cerca de 25 dias. Foram monitorizados os teores de CQO total, CQO solúvel, SST, SSV, AOV, o pH e a condutividade do conteúdo dos reatores no início e no final do período de incubação. Ao longo do período de incubação, o volume de biogás e a sua composição, nomeadamente em termos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram também monitorizados.

A apresentação dos resultados referentes ao momento de arranque do período de incubação e ao seu final é realizada nas mesmas secções.

### 3.1.1. Carência química de oxigênio total (CQO<sub>total</sub>) e solúvel (CQO<sub>solúvel</sub>)

Os teores de CQO total e de CQO solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental são apresentados na Figura 3.1. Os valores também podem ser consultados no Anexo 7.8, onde são apresentados na forma de uma tabela.



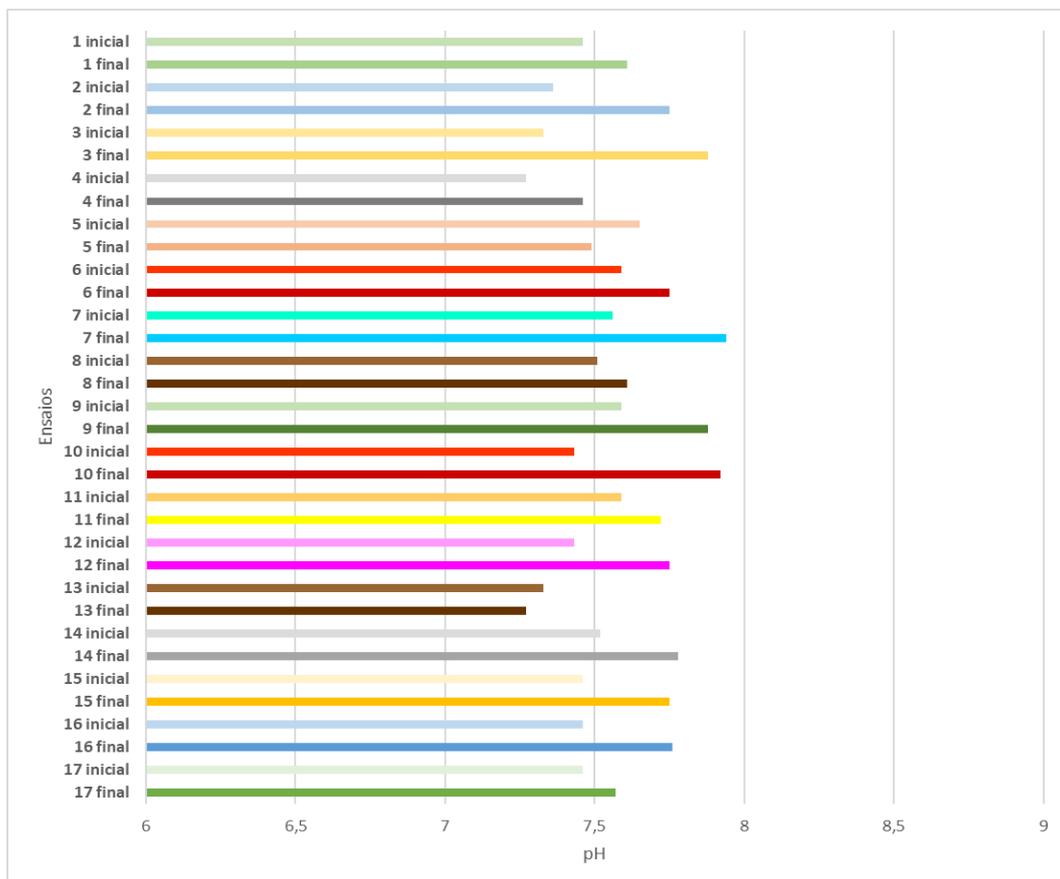
**Figura 3.1-** CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental.

Através da análise da Figura 3.1 é possível verificar que os valores de CQO iniciais apresentam alguma variabilidade face aos valores desejados (representados na Tabela 2.10). Esta variabilidade está possivelmente ligada à presença de sólidos e gorduras no soro de leite. Pode-se também constatar que a maior parte da matéria orgânica inicial encontrava-se na forma solúvel, como seria de esperar.

Tanto a CQO total como a solúvel decresceram em todos os reatores após o período de incubação, mostrando que parte da matéria orgânica inicial foi removida. Tal como seria de esperar, na generalidade, os reatores que foram alimentados com uma carga orgânica mais elevada são os que apresentaram uma CQO final mais elevada. Geralmente, os valores da CQO total e solúvel finais são próximos, indicando que a maior parte da matéria orgânica final se encontrava na forma solúvel.

### 3.1.2. pH

Na Figura 3.2 são apresentados os valores de pH no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental.



**Figura 3.2-** pH no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental.

Ao observar a Figura 3.2 verifica-se que o pH da maioria dos reatores no momento de arranque encontrava-se dentro da gama ótima para os microrganismos anaeróbios, que é de 7,0 a 7,5, segundo (Schnürer and Jarvis,

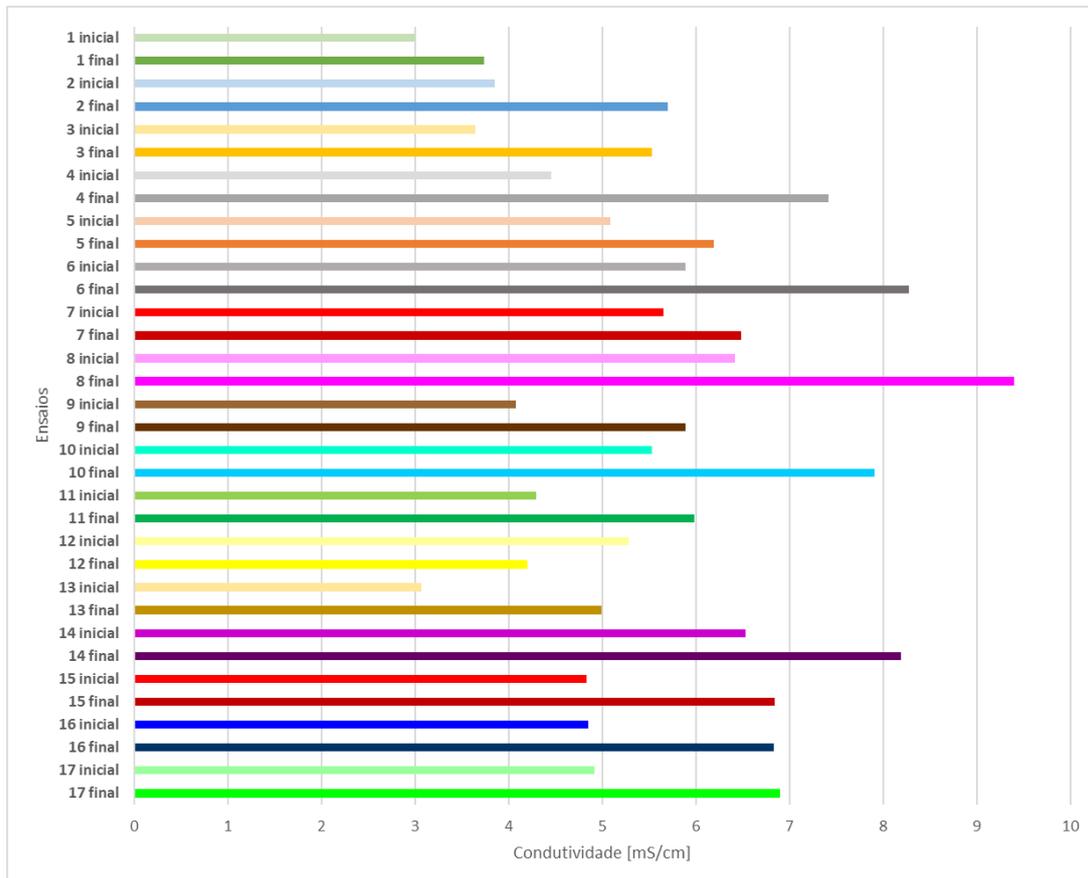
2018). Relativamente aos restantes reatores, o valor de pH era apenas ligeiramente superior ao valor superior da gama.

A evolução do pH foi semelhante para a maioria dos reatores, tendo-se observado um aumento ligeiro entre o início e o final do período de incubação, possivelmente devido à amónia produzida durante a degradação das proteínas do soro de leite (Seadi *et al.*, 2008).

A maioria dos reatores terminaram o período de incubação com um valor de pH ligeiramente superior a 7,5, ou seja, o pH encontrava-se próximo da gama adequada para os microrganismos anaeróbios, que é de 7,0 a 7,5, segundo (Schnürer and Jarvis, 2018).

### 3.1.3. Condutividade

Na Figura 3.3 mostram-se os valores de condutividade dos ensaios descontínuos da primeira fase, medidos antes e depois do período de incubação.



**Figura 3.3-** Condutividade no início e no final do período de incubação dos ensaios da 1ª fase.

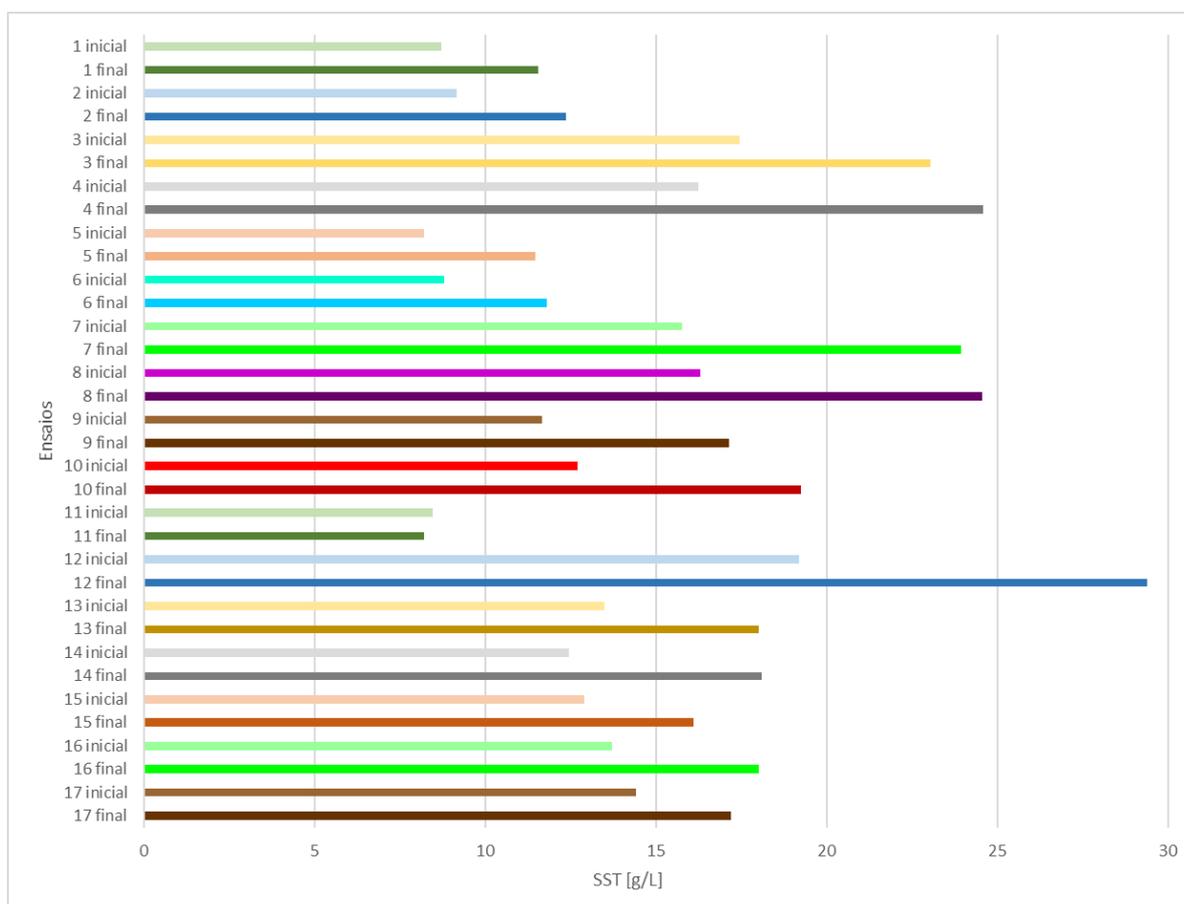
Pela análise da Figura 3.3, verifica-se que a condutividade na maioria dos reatores aumentou durante o período de incubação, exceto no reator 12 (6 gCQO/L; 14,04 gSSV/L; 2 g alcalinidade/L). Este aumento da condutividade pode estar relacionado com a libertação de cátions durante a decomposição do substrato (Schnürer and Jarvis, 2018).

No geral, verifica-se que quanto maior a quantidade da solução de alcalinidade adicionada aos reatores (Tabela 2.6) maior a condutividade dos reatores, corroborando o facto de que compostos de alcalinidade podem contribuir para a condutividade (Grady Jr, C.P.L., Daigger, G.T., Lim, 1992). Esperava-se observar esta relação entre a carga orgânica aplicada e a condutividade, no entanto, isso não se verificou, possivelmente a quantidade de soro adicionada aos reatores não foi suficiente para notabilizar a contribuição do soro de leite na condutividade dos ensaios.

Os valores de condutividade dos reatores no momento do arranque e no final do período de incubação eram inferiores à gama (15,9 a 22,0 mS/cm), que segundo (Mohee and Mudhoo, 2012) pode provocar uma redução de 50% da atividade dos microrganismos.

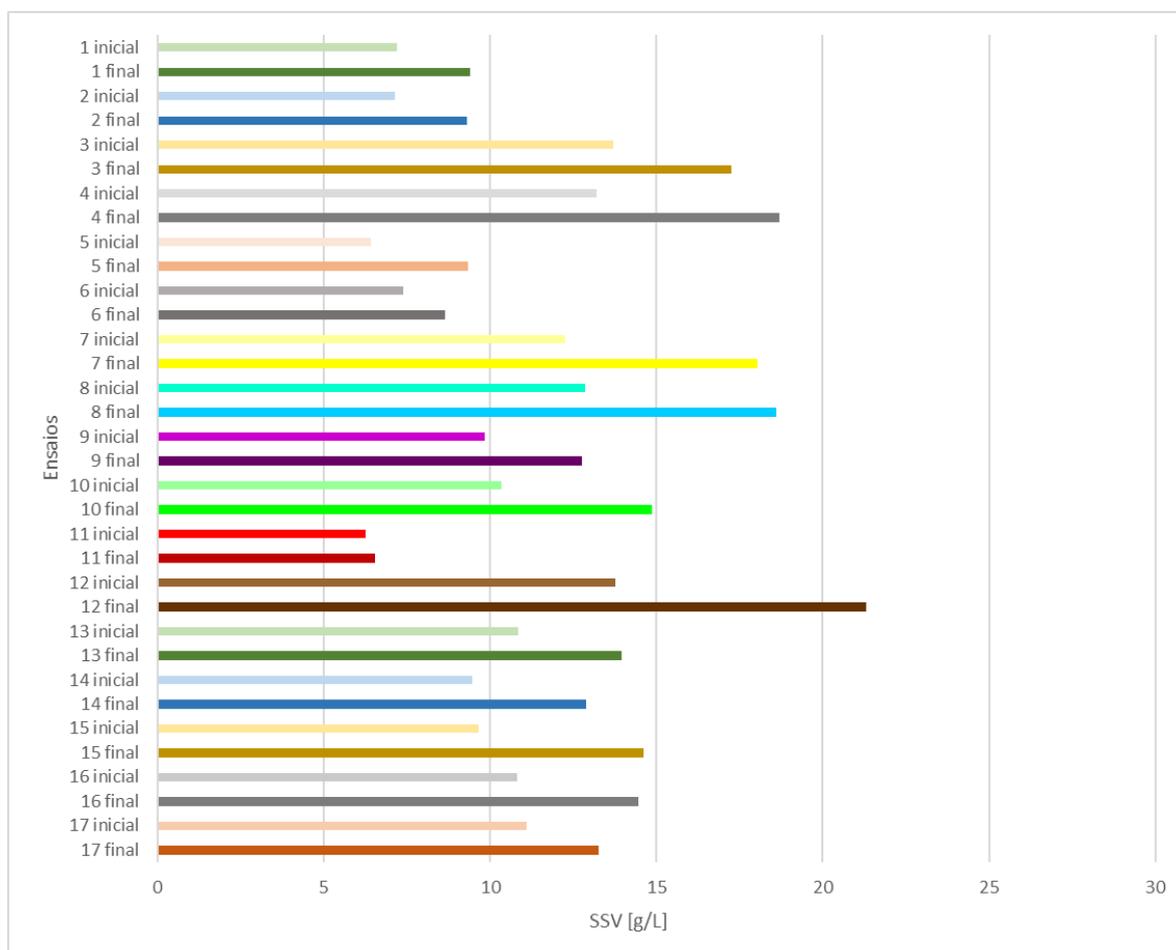
### 3.1.4. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV)

Na Figura 3.4 estão apresentadas as concentrações de SST dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental no início e no final do período de incubação.



**Figura 3.4-** Teor de sólidos suspensos totais (SST) dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental no início e no final do período de incubação.

Na Figura 3.5 são apresentadas as concentrações de SSV dos reatores da 1ª fase do trabalho experimental no momento do arranque e no final do período de incubação.



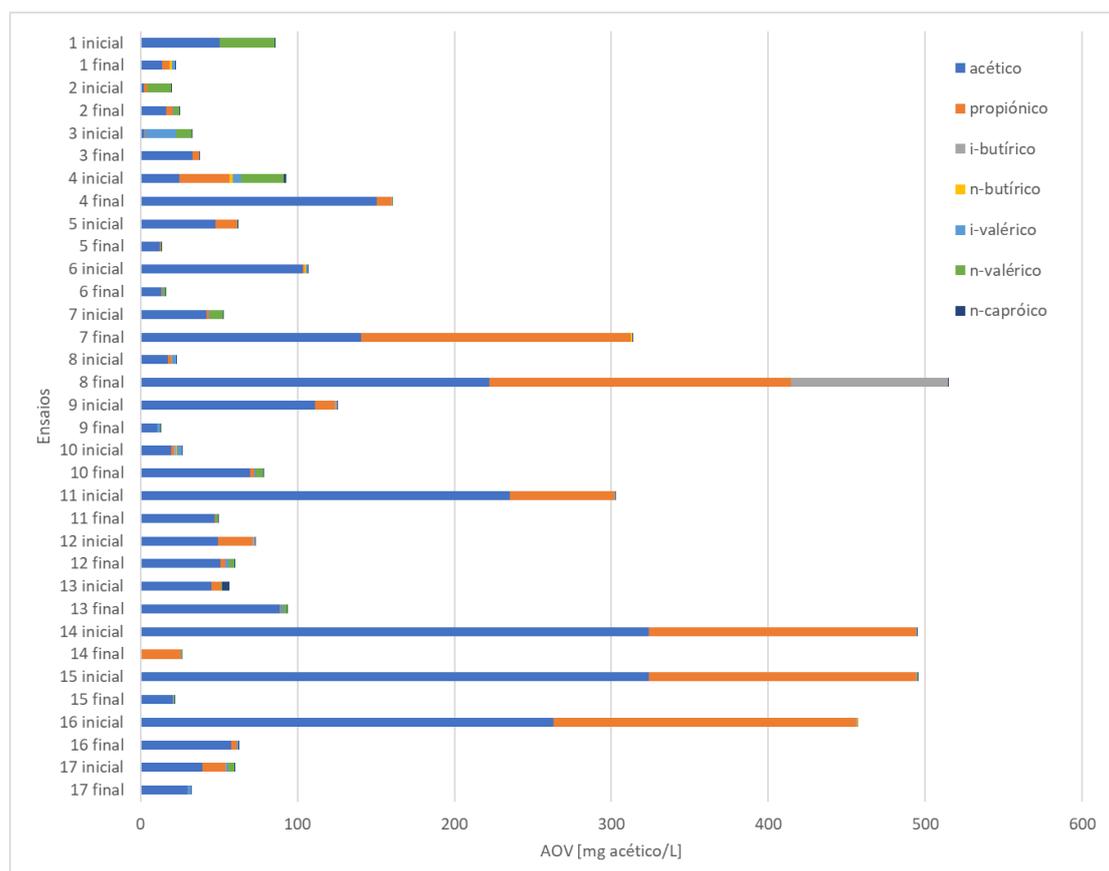
**Figura 3.5-** Sólidos suspensos voláteis (SSV) dos reatores descontínuos da 1ª fase do trabalho experimental no início e no final do período de incubação.

Da observação da Figura 3.5, pode-se constatar que ocorreu o aumento da concentração de SST durante o período de incubação em todos os reatores, exceto no reator 11 (6,00 gCQO/L; 3,96 gSSV/L; 2,00 g alcalinidade/L). Relativamente ao teor de SSV, ocorreu o aumento deste parâmetro em todos os ensaios durante o período de incubação, o que permite inferir que ocorreu um crescimento da biomassa. O aumento da concentração de SST durante o período de incubação deve-se, sobretudo, ao aumento do teor de SSV.

Na generalidade, verifica-se que quanto maior é a concentração de SST e SSV inicial, maior é o aumento destes parâmetros durante o período de incubação.

### 3.1.5. Ácidos orgânicos voláteis (AOV)

Na Figura 3.6 está apresentado o peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.



**Figura 3.6-** Peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.

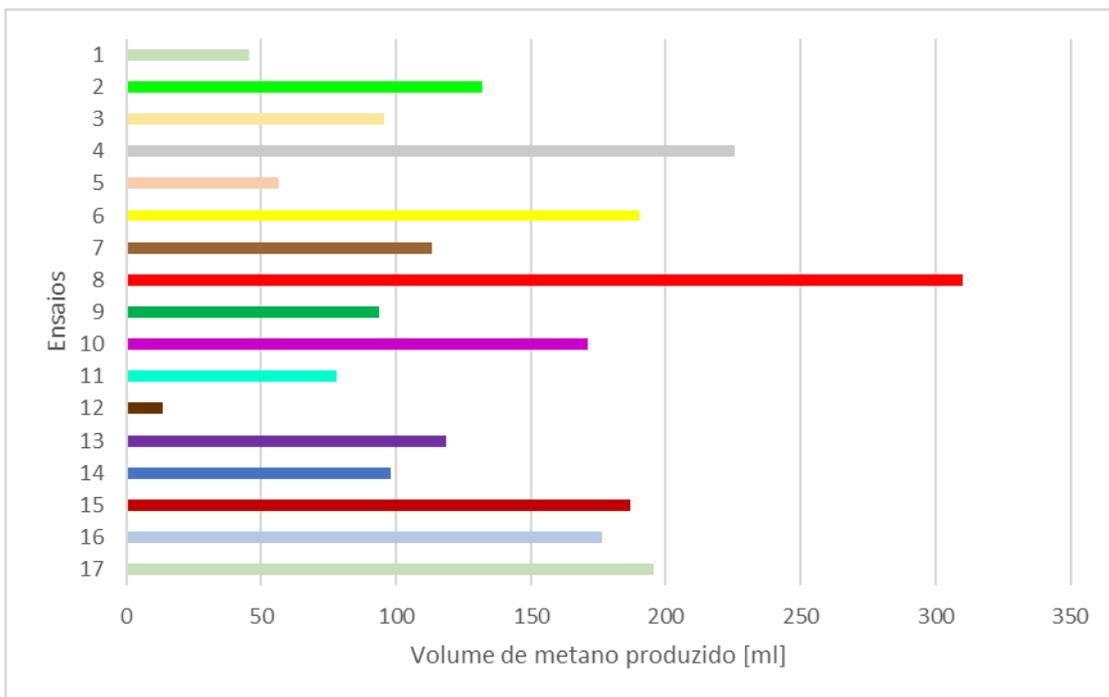
Através da Figura 3.6, pode-se observar, na maioria dos ensaios, uma predominância do ácido acético seguido pelo ácido propiônico no momento de arranque e no final da incubação. Pode-se também depreender que, de um modo geral, verifica-se um decréscimo da quantidade de AOV durante o período de incubação, o que poderá ter contribuído para o aumento do pH (Figura 3.2). A redução da concentração de AOV nos reatores sugere que os microrganismos metanogênicos degradaram os AOV e que não ocorreram episódios de inibição que impedissem a metanogênese.

A concentração total de AOV foi inferior ao limiar de toxicidade (3 000 mg acético/L) (Malina and Pohland, 1997) em todos os ensaios.

### 3.1.6. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

#### 3.1.6.1. Produção de metano

Os volumes de metano produzido pelos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental estão apresentados na Figura 3.7.

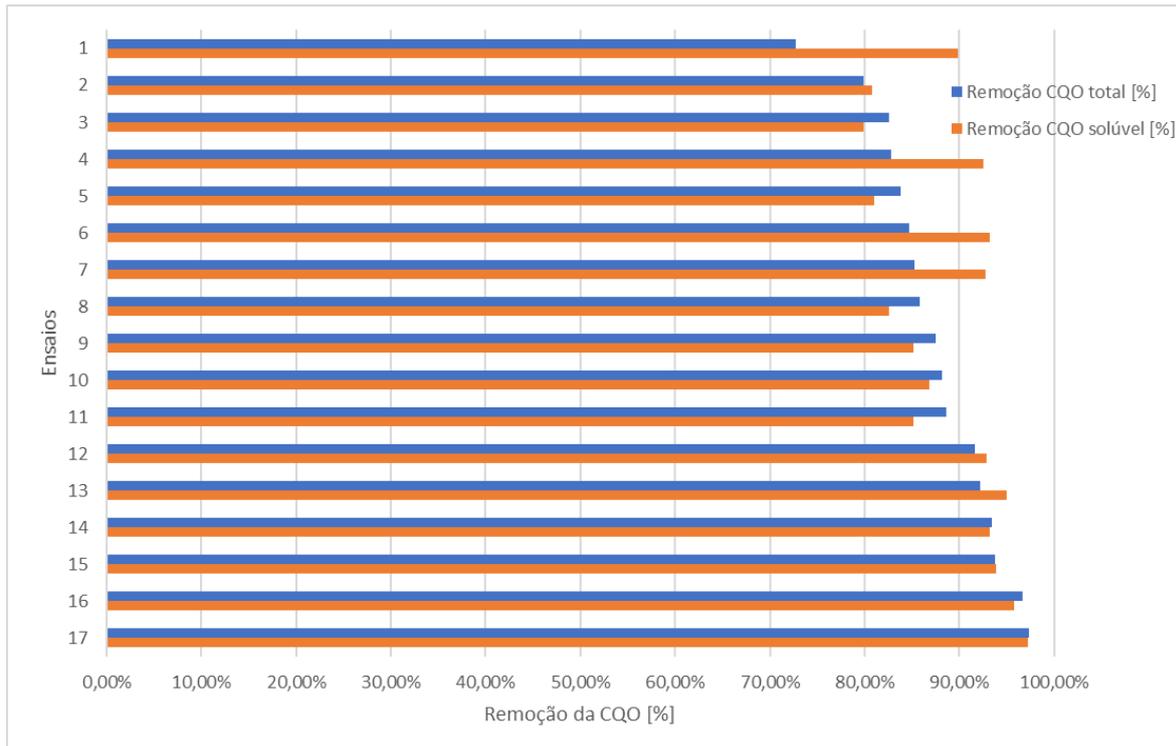


**Figura 3.7-** Volume de metano produzido pelos ensaios descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.

Através da análise da Figura 3.7 verifica-se que o volume de metano gerado varia bastante entre os ensaios (entre 13,42 e 310,34 mL). O reator que mais metano produziu foi o reator 8 (8,00 gCQO/L; 12,00 gSSV/L; 3,19 g alcalinidade/L), com 310,34 mL.

### 3.1.6.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

Os valores de eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase são apresentados na Figura 3.8. Os valores também podem ser consultados no Anexo 7.9, onde são apresentados na forma de uma tabela.

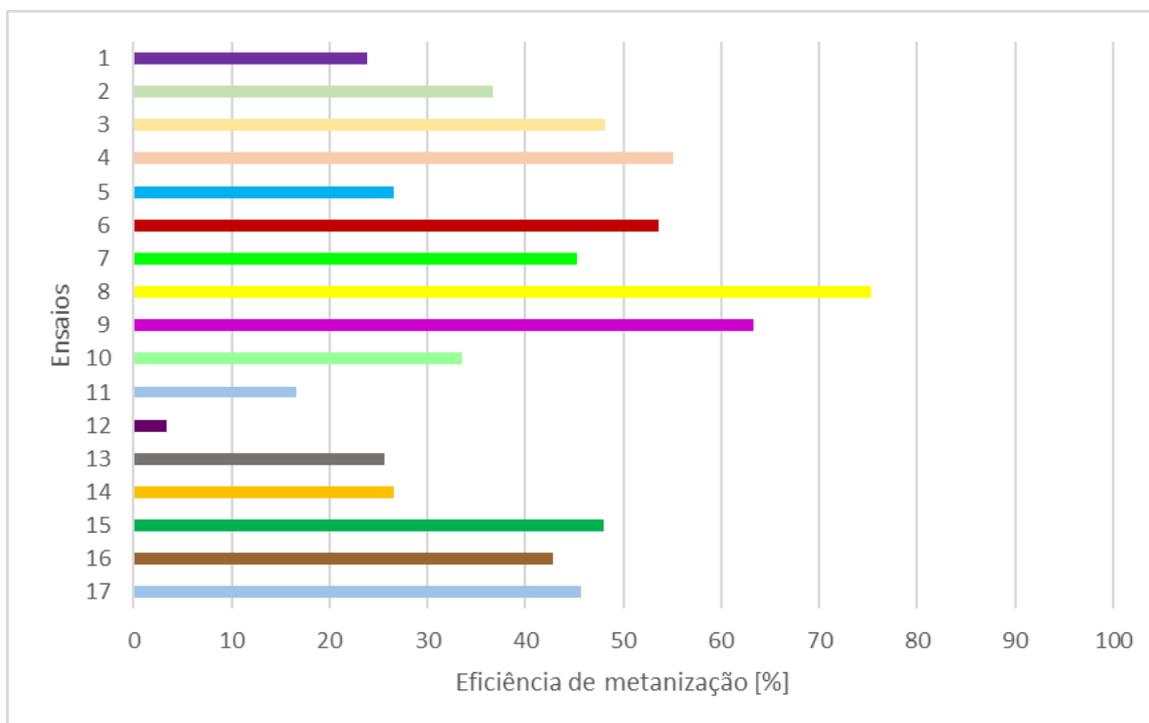


**Figura 3.8-** Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase.

A análise do Gráfico 3.8 permite verificar que a eficiência de remoção da CQO total variou entre 72 e 97%, e a eficiência de remoção da CQO solúvel entre 80 e 97%, aproximadamente. Dos 6 ensaios que alcançaram uma remoção da CQO total superior a 90%, 5 operavam com uma CQO inicial de 6,00 gO<sub>2</sub>/L. No que toca à CQO solúvel, dos 9 ensaios que alcançaram uma remoção superior a 90%, em 7 foi aplicada uma CQO inicial de 6,00 gO<sub>2</sub>/L.

O ensaio 17 (8,00 gCQO/L; 12,00 gSSV/L; 3,19 g alcalinidade/L) foi o que atingiu a maior eficiência de remoção da CQO total e da CQO solúvel (97,39 e 97,21%, respetivamente).

Na Figura 3.9 são apresentados os valores de eficiência de metanização dos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental.



**Figura 3.9-** Eficiência de metanização dos reatores da primeira fase do trabalho experimental.

Através da análise do gráfico da Figura 3.9, pode-se constatar que os valores de eficiência de metanização variam bastante entre os ensaios (entre 3,42 e 75,32%). O reator 8, que opera com 8,00 gCQO/L; 12,00 gSSV/L; 3,19 g alcalinidade/L foi o que atingiu o valor de eficiência de metanização mais elevado, com 75,32%.

Todos os reatores atingiram eficiências de remoção da CQO superiores às eficiências de metanização, o que demonstra que ocorreu a acumulação de matéria orgânica na biomassa dos reatores. Parte da matéria orgânica também foi utilizada pelos microrganismos para fins reprodutivos (Van Haandel *et al.*, 1999), no entanto, não se constatou nenhuma relação entre o aumento da concentração de SSV (Figura 3.5) e a diferença entre a remoção de CQO e a eficiência de metanização.

### 3.1.7. Superfícies de resposta

Dada a grande quantidade de resultados obtidos, a sua análise torna-se difícil e complexa, por isso, optou-se também por apresentar os resultados em gráficos de três dimensões como forma de conjugar e sintetizar a informação. Cada gráfico compreende uma combinação de duas variáveis de interesse (CQO, SSV, alcalinidade) com uma variável de resposta (remoção da CQO total [gO<sub>2</sub>/L], produção de metano [mL], fator que relaciona o volume de metano gerado com o volume de soro adicionado aos reatores [mLCH<sub>4</sub>/mLsoro], doravante designado por fator metano/soro). As variáveis de interesse e de resposta estão reunidas na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1-** Variáveis de interesse e de resposta.

Ensaio	Variáveis de interesse			Variáveis de resposta		
	CQO [gO <sub>2</sub> /L]	SSV [g/L]	Alcalinidade [gKHCO <sub>3</sub> /L]	Remoção da CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	Produção de CH <sub>4</sub> [mL]	Fator metano/soro [mLCH <sub>4</sub> /mLsoro]
1	4,00	6,00	0,81	2,54	45,60	6,56
2	8,00	6,00	0,81	4,78	132,16	9,50
3	4,00	12,00	0,81	2,65	95,69	13,76
4	8,00	12,00	0,81	5,45	225,52	16,21
5	4,00	6,00	3,19	2,83	56,60	8,13
6	8,00	6,00	3,19	4,73	190,44	13,69
7	4,00	12,00	3,19	3,32	113,23	16,28
8	8,00	12,00	3,19	5,48	310,34	22,31
9	2,64	9,00	2,00	1,97	93,67	20,40
10	9,36	9,00	2,00	6,79	170,88	10,50
11	6,00	3,96	2,00	6,26	78,11	7,49
12	6,00	14,04	2,00	5,22	13,42	1,29
13	6,00	9,00	0,00	6,17	118,72	11,38
14	6,00	9,00	4,00	4,90	97,97	9,39
15	6,00	9,00	2,00	5,18	186,97	17,92
16	6,00	9,00	2,00	5,48	176,18	16,89
17	6,00	9,00	2,00	5,70	195,63	18,75

Nas Tabela 3.2, 3.3 e 3.4 estão apresentadas as estimativas dos efeitos das variáveis de influência estudadas, para o volume de CH<sub>4</sub>, a remoção da CQO total e o fator metano/soro, respetivamente.

**Tabela 3.2-** Estimativa dos efeitos para o volume de metano.

	Efeito	Erro padrão	t(7)	Valor- $\rho$	Estimativa por intervalo (95%)		Coeficientes	Erro padrão	Estimativa por intervalo (95%)	
					L <sub>inferior</sub>	L <sub>superior</sub>			L <sub>inferior</sub>	L <sub>superior</sub>
Média	0,183	0,039	4,70	0,002	0,091	0,274	0,183	0,039	0,091	0,275
CQO (linear)	0,099	0,037	2,70	0,030	0,012	0,185	0,049	0,018	0,006	0,093
CQO (quadrático)	-0,014	0,040	-0,35	0,735	-0,109	0,081	-0,007	0,020	-0,054	0,041
SSV (linear)	0,030	0,037	0,81	0,444	-0,057	0,116	0,015	0,018	-0,028	0,058
SSV (quadrático)	-0,074	0,040	-1,85	0,107	-0,170	0,021	-0,037	0,020	-0,085	0,010
Alcalinidade (linear)	0,019	0,037	0,51	0,628	-0,068	0,105	0,009	0,018	-0,034	0,052
Alcalinidade (quadrático)	-0,028	0,040	-0,70	0,504	-0,123	0,067	-0,014	0,020	-0,062	0,033
CQO*SSV	0,030	0,048	0,63	0,550	-0,083	0,143	0,015	0,024	-0,041	0,071
CQO*Alcalinidade	0,030	0,048	0,63	0,550	-0,083	0,143	0,015	0,024	-0,041	0,071
SSV*Alcalinidade	0,005	0,048	0,10	0,920	-0,108	0,118	0,003	0,024	-0,054	0,059

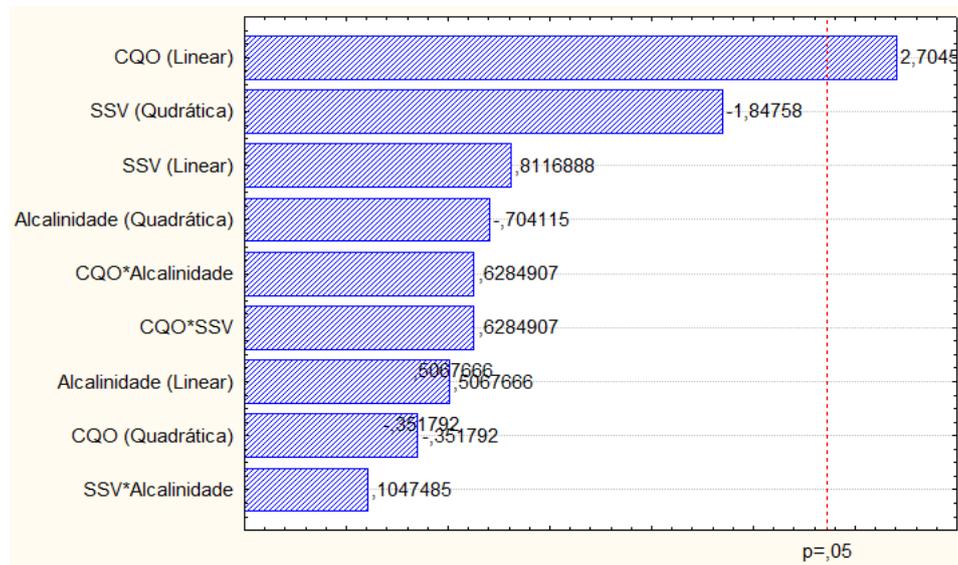
**Tabela 3.3-** Estimativa dos efeitos para a remoção da CQO total.

	Efeito	Erro padrão	t(7)	Valor- $\rho$	Estimativa por intervalo (95%)		Coeficientes	Erro padrão	Estimativa por intervalo (95%)	
					L <sub>inferior</sub>	L <sub>superior</sub>			L <sub>inferior</sub>	L <sub>superior</sub>
Média	5,535	0,581	9,53	0,000	4,161	6,909	5,535	0,581	4,161	6,909
CQO (linear)	2,521	0,546	4,62	0,002	1,230	3,812	1,260	0,273	0,615	1,906
CQO (quadrático)	-1,310	0,601	-2,18	0,066	-2,732	0,112	-0,654	0,301	-1,366	0,056
SSV (linear)	0,040	0,546	0,07	0,944	-1,251	1,331	0,020	0,273	-0,625	0,665
SSV (quadrático)	-0,346	0,601	-0,58	0,583	-1,768	1,076	-0,173	0,301	-0,884	0,538
Alcalinidade (linear)	0,175	0,546	-0,32	0,758	-1,466	1,116	-0,088	0,273	-0,733	0,558
Alcalinidade (quadrático)	-0,491	0,601	-0,82	0,441	-1,912	0,931	-0,245	0,301	-0,956	0,465
CQO*SSV	0,205	0,713	0,29	0,782	-1,481	1,891	0,103	0,356	-0,740	0,945
SSV*Alcalinidade	-0,245	0,713	-0,34	0,741	-1,931	1,441	-0,123	0,356	-0,965	0,720
SSV*Alcalinidade	0,115	0,713	0,16	0,876	-1,571	1,801	0,058	0,356	-0,785	0,900

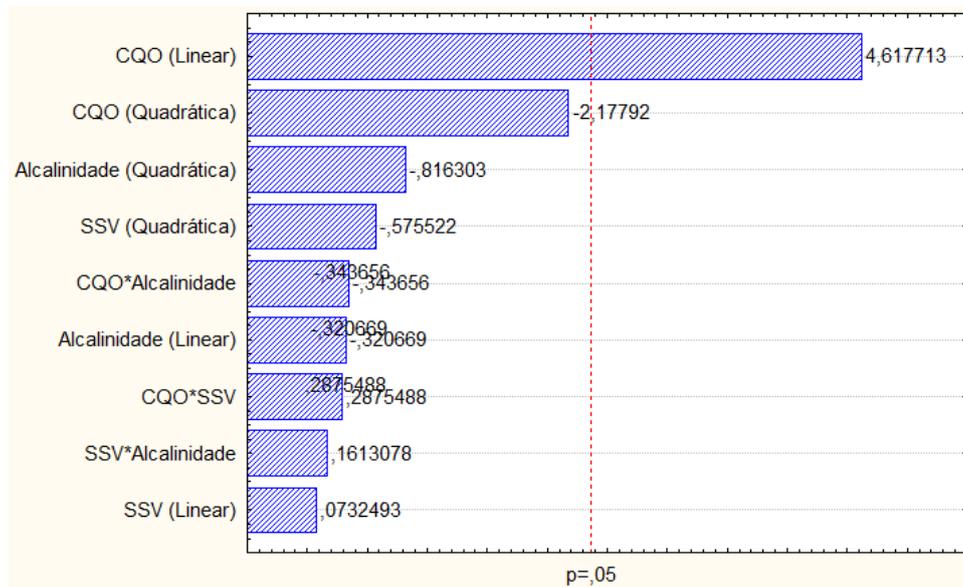
**Tabela 3.4-** Estimativa dos efeitos para o fator metano/soro.

	Efeito	Erro padrão	t(7)	Valor- $\rho$	Estimativa por intervalo (95%)		Coeficientes	Erro padrão	Estimativa por intervalo (95%)	
					L <sub>inferior</sub>	L <sub>superior</sub>			L <sub>inferior</sub>	L <sub>superior</sub>
Média	17,623	3,465	5,09	0,001	9,430	25,817	17,623	3,465	9,430	25,817
CQO (linear)	0,060	3,256	0,02	0,986	-7,639	7,760	0,030	1,628	-3,820	3,880
CQO (quadrático)	-0,242	3,587	-0,07	0,948	-8,725	8,241	-0,121	1,794	-4,362	4,121
SSV (linear)	2,771	3,256	0,85	0,423	-4,928	10,471	1,386	1,628	-2,464	5,236
SSV (quadrático)	-7,823	3,587	-2,18	0,065	-16,31	0,655	-3,914	1,794	-8,155	0,328
Alcalinidade (linear)	1,423	3,256	0,44	0,675	-6,275	9,122	0,712	1,628	-3,138	4,561
Alcalinidade (quadrático)	-3,415	3,585	-0,95	0,372	-11,89	5,062	-1,707	1,793	-5,946	2,531
CQO*SSV	0,360	4,253	0,08	0,935	-9,696	10,416	0,180	2,126	-4,848	5,208
CQO*Alcalinidade	1,800	4,253	0,42	0,685	-8,256	11,856	0,900	2,126	-4,128	5,928
SSV*Alcalinidade	0,355	4,253	0,08	0,936	-9,701	10,411	0,178	2,126	-4,850	5,205

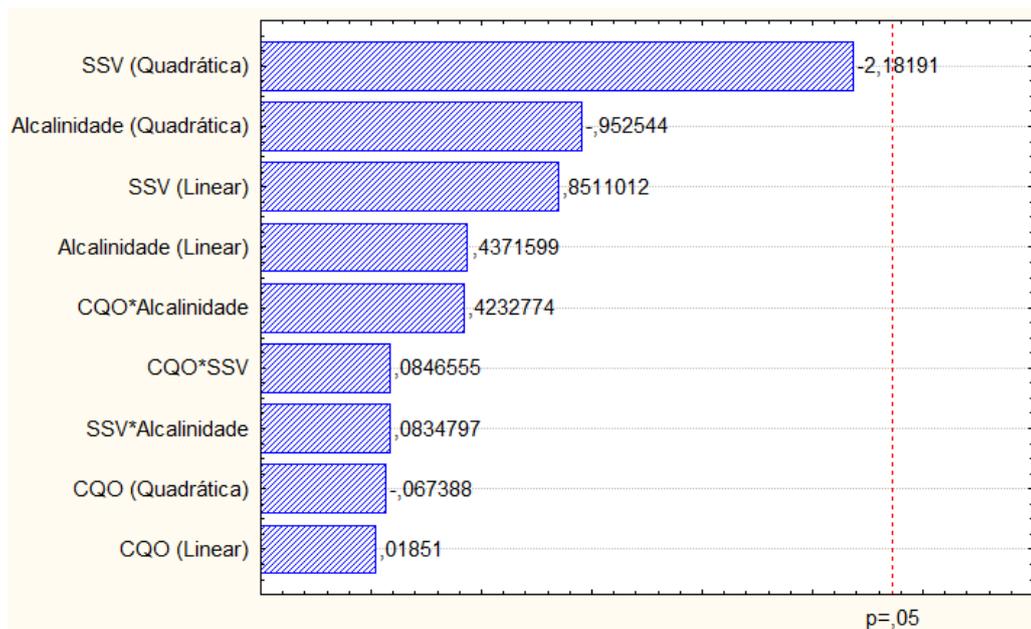
Na Figura 3.10, 3.11 e 3.12 podem-se observar os Diagramas de Pareto das variáveis de influência estudadas, para o volume de CH<sub>4</sub> gerado, a remoção da CQO e o fator metano/soro, respetivamente.



**Figura 3.10-** Diagrama de Pareto das variáveis de influência estudadas para o volume de metano gerado.



**Figura 3.11-** Diagrama de Pareto das variáveis de influência estudadas para a remoção de CQO total.



**Figura 3.12-** Diagrama de Pareto das variáveis de influência estudadas para o fator metano/soro.

Através da análise da Tabela 3.4 e da Figura 3.10, pode-se constatar que a CQO é a única variável que apresenta o valor- $p$  inferior a 0,05, ou seja, esta variável de influência é a que tem maior efeito sobre a produção de metano.

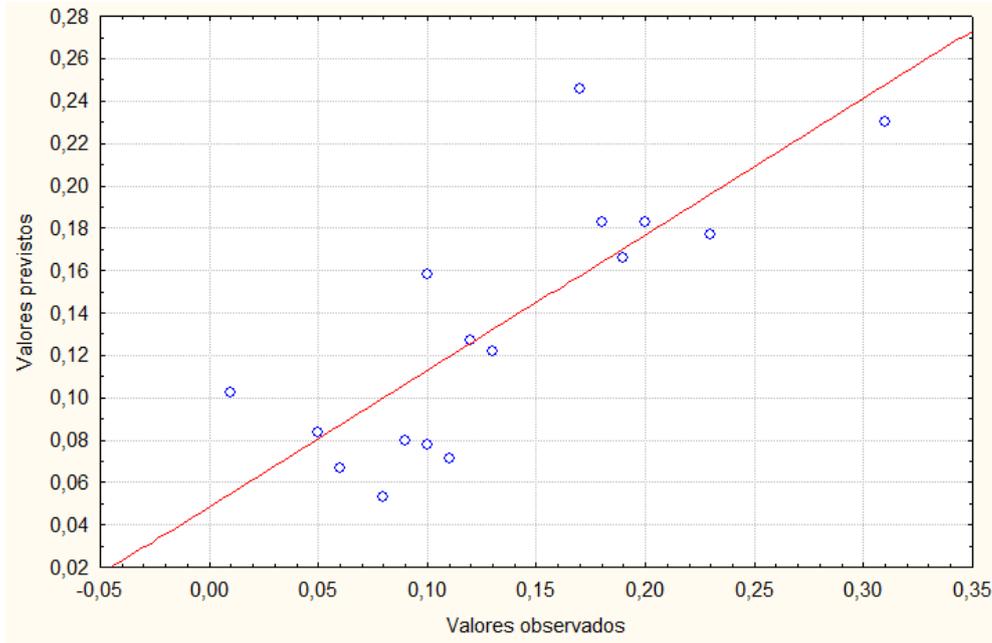
Relativamente à remoção da CQO, pode-se observar através da Tabela 3.5 e da Figura 3.11 que a CQO é a variável de influência em estudo que mais influencia esta variável de resposta, visto que é a única variável que apresenta o valor- $p$  inferior a 0,05.

No que toca ao fator metano/soro, pode-se verificar que nenhuma das variáveis independentes apresenta um valor- $p$  inferior a 0,05 (Tabela 3.6 e Figura 3.12).

Não se verificam interações entre as variáveis independentes estudadas.

### 3.1.7.1. Volume de metano

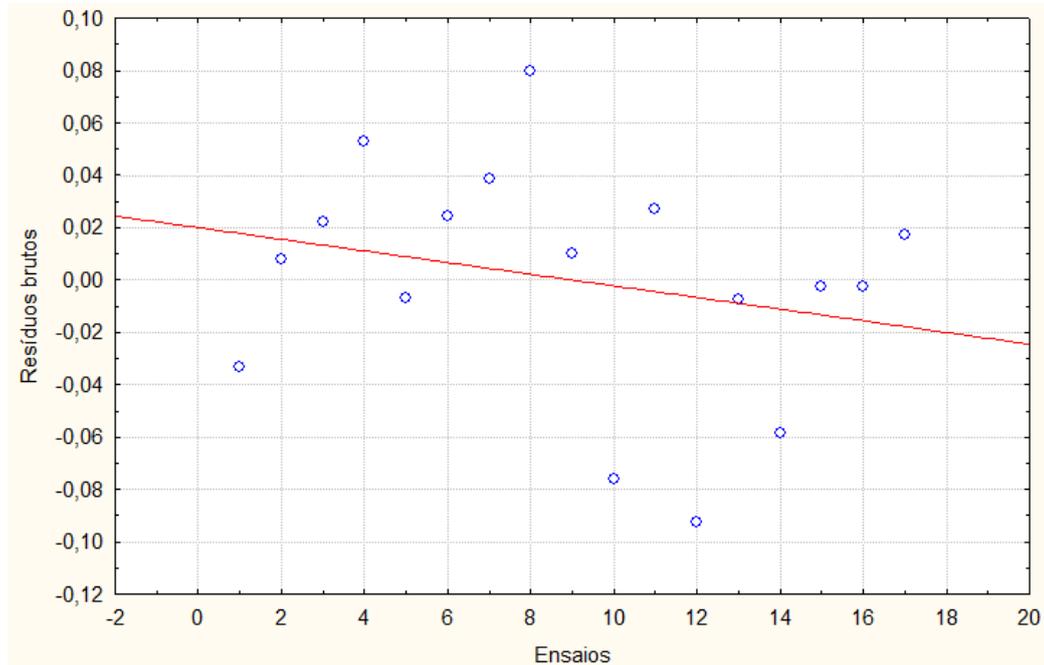
Na Figura 3.13 está representado o gráfico que relaciona os valores experimentais observados e os valores previstos do volume de metano gerado.



**Figura 3.13-** Representação gráfica da relação entre os valores experimentais observados e os valores previstos de metano gerado.

Na Figura 3.13, a linha diagonal vermelha representa os valores previstos e os pontos azuis os valores observados. Os pontos que se encontram acima da linha indicam que o valor observado é superior ao valor previsto, enquanto que os pontos que se encontram abaixo da linha indicam que o valor observado é inferior ao valor previsto. O coeficiente de correlação da reta que representa os valores previstos é de 0,64. Por aplicação da “Regra do Polegar” (*Rule of Thumb*), que declara que existe uma relação linear significativa se  $r^2 \geq 2/\sqrt{n}$ , em que  $n$  são o número de ensaios, existe uma relação linear significativa, pois  $0,64 \geq 2/\sqrt{17} \Leftrightarrow 0,64 \geq 0,49$ .

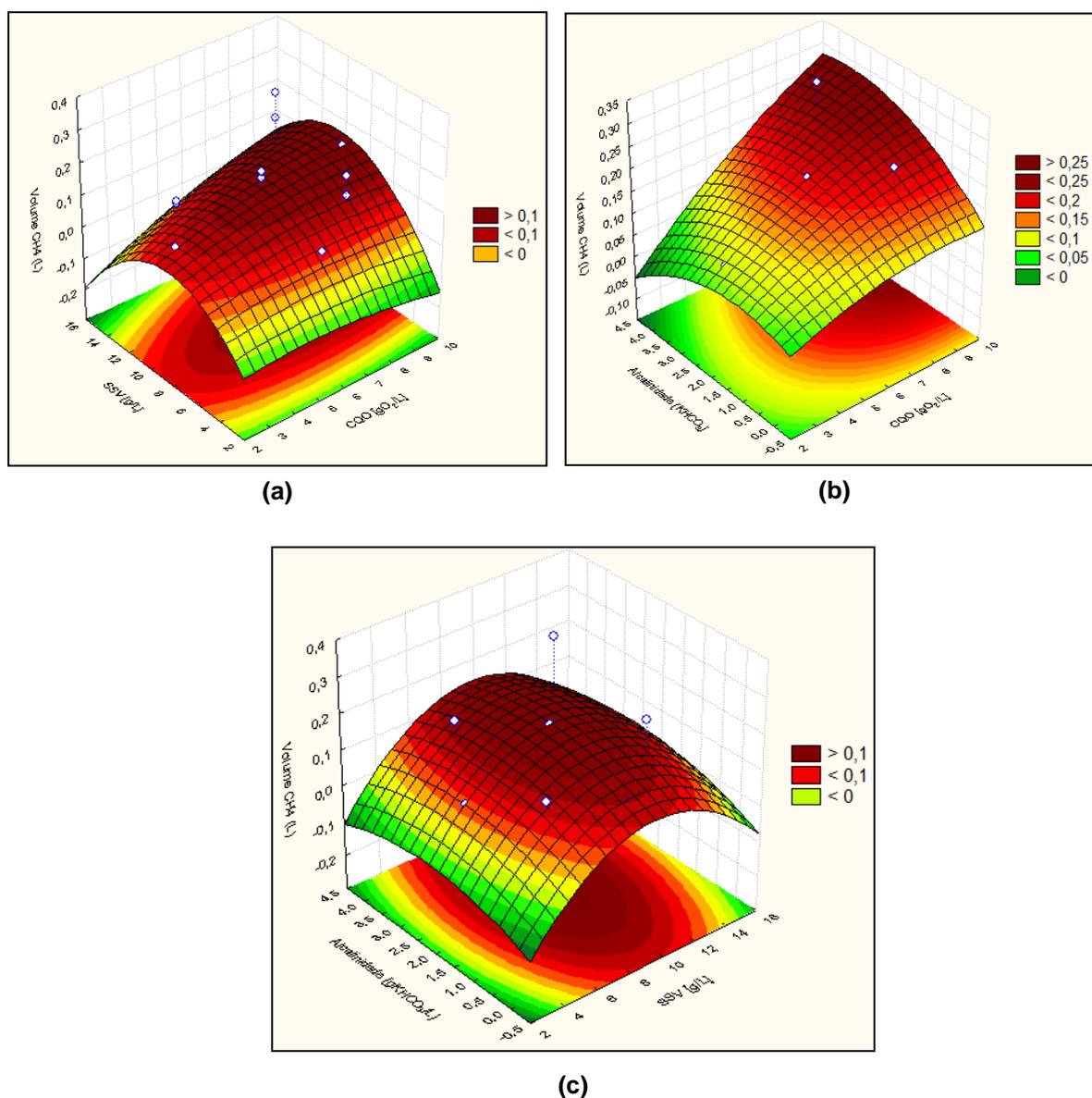
Na Figura 3.14 está representada graficamente a relação entre os valores dos resíduos brutos observados e dos resíduos brutos previstos do volume de metano gerado para cada ensaio realizado.



**Figura 3.14-** Representação gráfica da relação entre os resíduos brutos observados e resíduos brutos previstos do volume de metano gerado para cada ensaio.

Na Figura 3.14, a linha diagonal vermelha representa os valores previstos e os pontos azuis os valores observados dos resíduos brutos. Através da Figura 3.14 pode-se inferir que as variáveis de influências estudantes, para o caso do metano gerado, são independentes, visto que a reta apresenta um declive reduzido (próximo de zero).

A Figura 3.15 representa as superfícies de resposta obtidas para a variável dependente volume de metano. Fizeram-se três combinações de variáveis de influência diferentes (CQO e SSV; CQO e alcalinidade; SSV e alcalinidade). Quando a variável bloqueada era a CQO ou a concentração de SSV, o valor destes parâmetros eram os valores centrais (Tabela 2.4; 6,00 [gO<sub>2</sub>/L] para o caso da CQO e 9,00 [gSSV/L] para o caso dos SSV). Quando a variável bloqueada era a alcalinidade, decidiu-se que neste caso o valor deste parâmetro seria 0 (zero), porque como se constatou anteriormente a alcalinidade possui pouca influência (Figura 3.10, 3.11, 3.12) e desta forma simula-se a redução de custos associados à alcalinidade.



**Figura 3.15-** Superfícies de resposta para o volume de metano gerado [L] em função da CQO e SSV (a), da Alcalinidade e CQO (b) e Alcalinidade e SSV (c).

Os pontos azuis na Figura 3.15 representam valores experimentais.

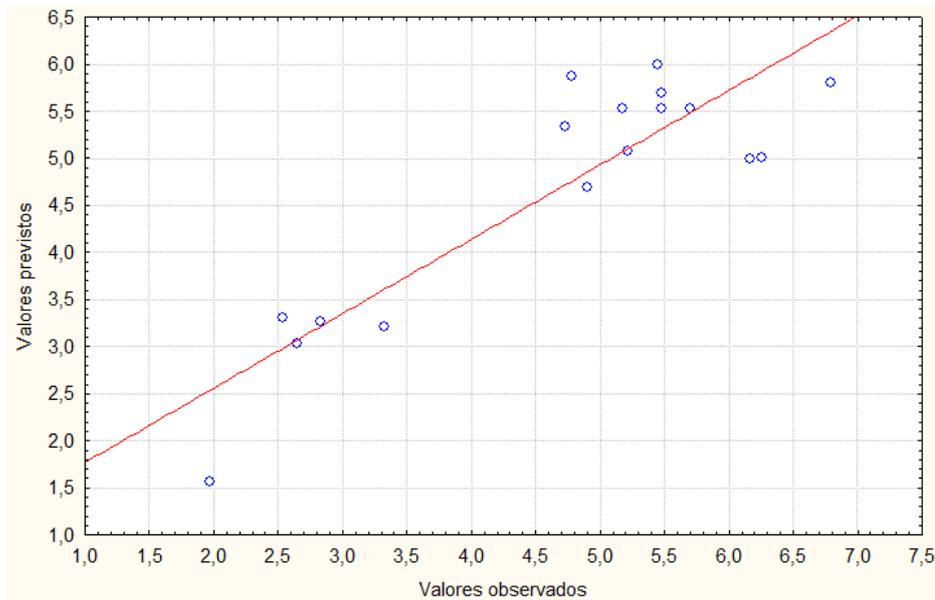
A partir da análise da Figura 3.15 (a) é possível verificar que com o aumento da CQO, a produção de metano é favorecida. No entanto, verifica-se que a dada altura a produção de metano estagna, possivelmente por ser difícil à biomassa suportar elevadas cargas orgânicas. Na Figura 3.15 (a) é visível que à medida que se aumenta a concentração de SSV, a produção de metano aumenta até atingir o seu máximo quando a concentração de SSV é aproximadamente 10 g/L. Para concentrações superiores a 10 g/L de SSV a produção de metano volta a diminuir.

Da análise da superfície de resposta representada na Figura 3.15 (b), pode-se inferir que o volume de metano gerado aumenta com o aumento da CQO e da concentração de alcalinidade. Isto demonstra que é necessário adicionar alcalinidade à medida que se aumenta a CQO aplicada, como forma de manter a estabilidade e evitar a falência da metanogénese, que muitas vezes sofre inibição causada pela descida do pH, resultante da rápida transformação da matéria orgânica solúvel presente no soro (Gerardi, 2003; Rico *et al.*, 2015).

A Figura 3.15 (c) vem corroborar o que foi dito anteriormente relativamente ao facto de que 10 g/L de SSV é a concentração deste parâmetro que mais favorece a produção de metano. Relativamente à concentração de alcalinidade, o gráfico mostra que a produção de metano é máxima para 2 gKHCO<sub>3</sub>/L de alcalinidade, no entanto, esta informação não é linear para qualquer CQO, visto a variável independente bloqueada neste gráfico foi a CQO (6,00 gO<sub>2</sub>/L).

### 3.1.7.2. Remoção da CQO

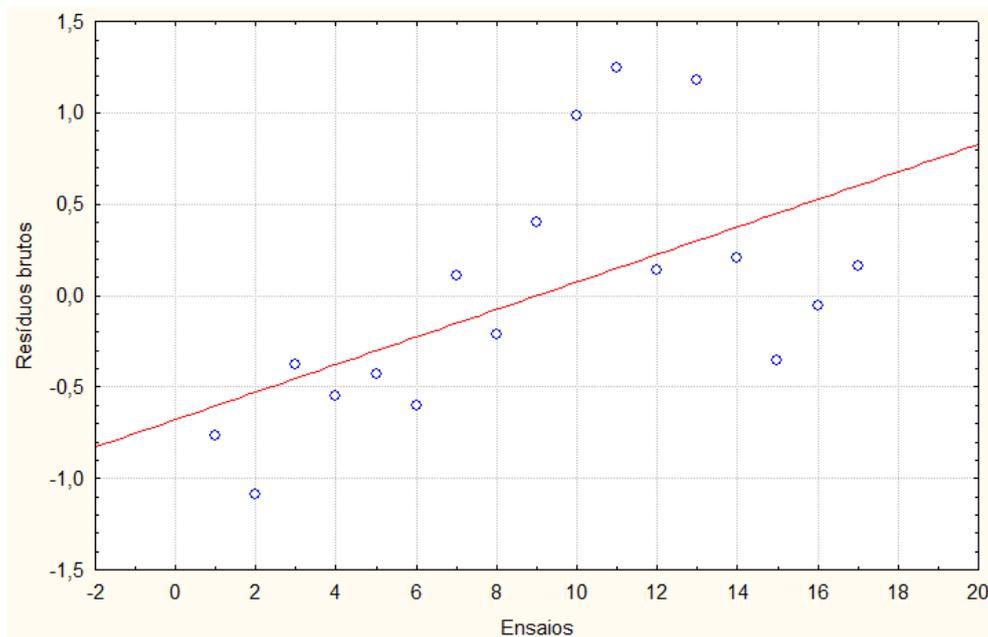
Na Figura 3.16 está representado o gráfico que relaciona os valores experimentais observados e os valores previstos da remoção da CQO.



**Figura 3.16-** Representação gráfica da relação entre os valores experimentais observados e os valores previstos da remoção da CQO.

Na Figura 3.16, a linha diagonal vermelha representa os valores previstos e os pontos azuis os valores observados, sendo que os pontos que se localizam acima da linha indicam que o valor observado é superior ao valor previsto, e os pontos localizados abaixo da linha indicam que o valor observado é inferior ao valor previsto. O coeficiente de correlação da reta que representa os valores previstos é de 0,79. Por aplicação da “Regra do Polegar” (*Rule of Thumb*), verifica-se que existe uma relação linear significativa, visto que  $r^2 \geq 2/\sqrt{n} \Leftrightarrow 0,79 \geq 2\sqrt{17} \Leftrightarrow 0,79 \geq 0,49$ .

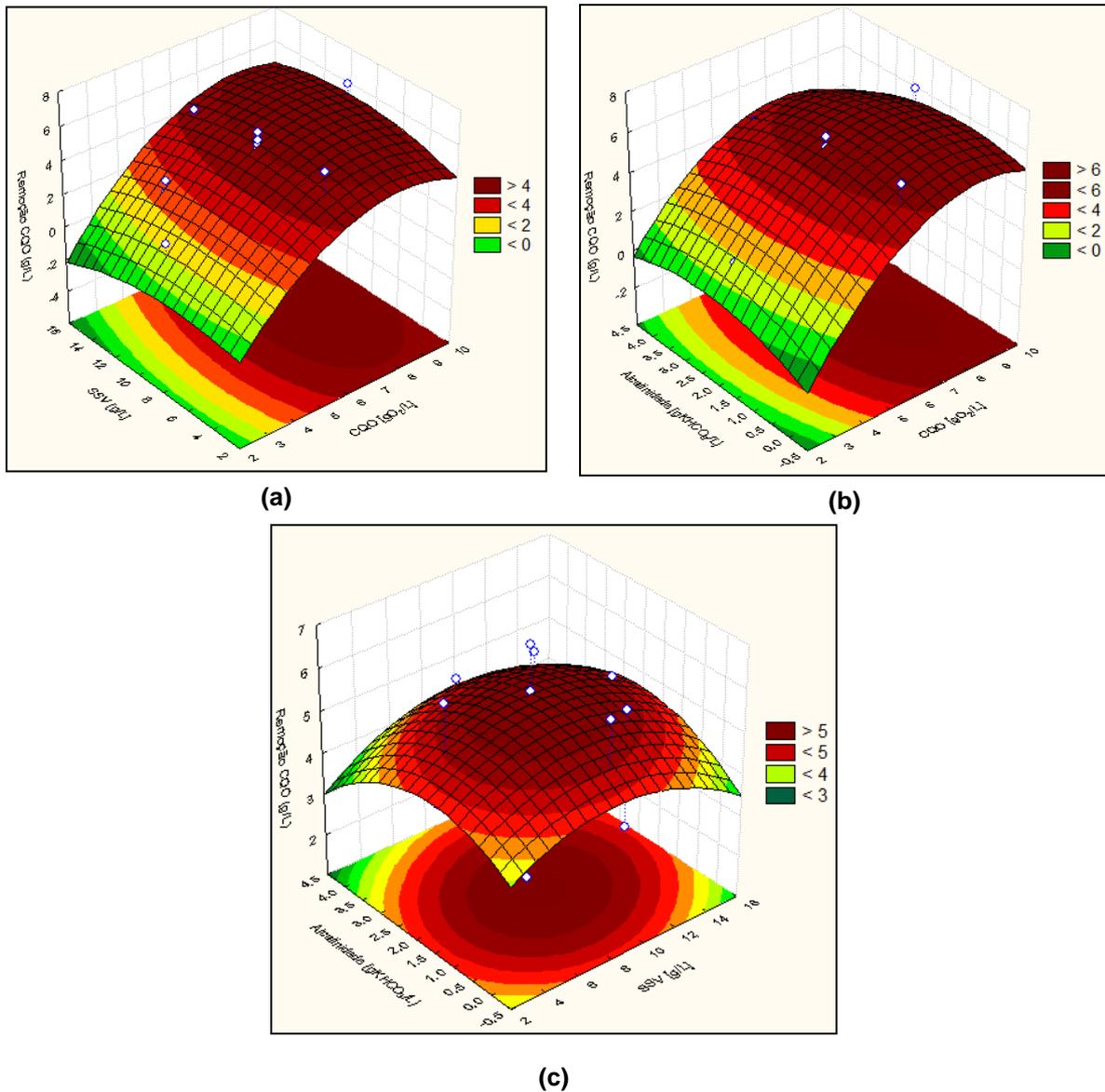
Na Figura 3.17 está representada a relação entre os valores dos resíduos brutos observados e dos resíduos brutos previstos da remoção da CQO para cada ensaio realizado.



**Figura 3.17-** Representação gráfica da relação entre os resíduos brutos observados e resíduos brutos previstos da remoção da CQO para cada ensaio gerado.

Na Figura 3.17, a linha diagonal vermelha representa os valores previstos e os pontos azuis os valores observados dos resíduos brutos. Através da Figura 3.17 pode-se inferir que as variáveis de influências estudantes, para o caso da remoção da CQO, são independentes, visto que a reta apresenta um declive reduzido (próximo de zero).

A Figura 3.18 representa as superfícies de resposta obtidas para a variável dependente remoção da CQO. Fizeram-se três combinações de variáveis de influência diferentes (CQO e SSV; CQO e alcalinidade; SSV e alcalinidade). Quando a variável bloqueada era a CQO ou a concentração de SSV, o valor destes parâmetros eram os valores centrais (Tabela 2.4; 6,00 [gO<sub>2</sub>/L] para o caso da CQO e 9,00 [gSSV/L] para o caso dos SSV). Quando a variável bloqueada era a alcalinidade, decidiu-se que neste caso o valor deste parâmetro seria 0 (zero), porque como se constatou anteriormente a alcalinidade possui pouca influência (Figura 3.10, 3.11, 3.12) e desta forma simula-se a redução de custos associados à alcalinidade.



**Figura 3.18-** Superfícies de resposta para a remoção da CQO [gO<sub>2</sub>/L] em função da CQO e SSV (a), da Alcalinidade e CQO (b) e Alcalinidade e SSV (c).

Os pontos azuis na Figura 3.18 representam valores experimentais.

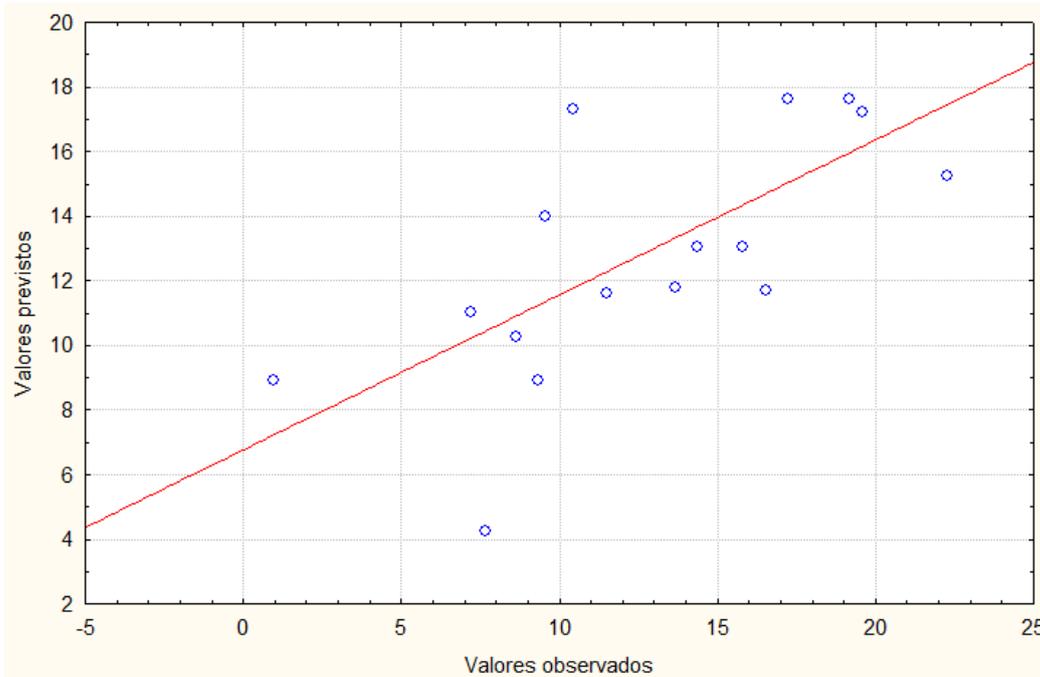
No gráfico da Figura 3.18 (a) é visível o aumento da remoção da CQO com o aumento da CQO aplicada, até dado ponto (sensivelmente 8 gO<sub>2</sub>/L de CQO aplicada), a partir do qual a remoção de CQO estagna, possivelmente por ser difícil à biomassa suportar elevadas cargas orgânicas. Relativamente aos SSV, é perceptível que a remoção de CQO é máxima para uma concentração de cerca de 10 g/L de SSV, no entanto, pode-se constatar que para um dado valor de CQO aplicado, os valores de remoção de CQO são próximos entre diferentes valores de SSV.

À semelhança do que acontece com a superfície de resposta da Figura 3.18 (a), na superfície de resposta da remoção da CQO em função da CQO aplicada e da alcalinidade, representada na Figura 3.18 (b), ocorre um aumento da remoção da CQO com o aumento da CQO aplicada, até sensivelmente 8 gO<sub>2</sub>/L de CQO aplicada, a partir da qual o aumento da remoção de CQO é interrompido, provavelmente por ser difícil à biomassa suportar elevadas cargas orgânicas. Pode-se constatar que a remoção de CQO é máxima para uma concentração de alcalinidade de cerca de 2,00 gKHCO<sub>3</sub>/L, contudo, verifica-se que para um dado valor de CQO, os valores de remoção de CQO são semelhantes entre diferentes valores de alcalinidade.

Na Figura 3.18 (c), onde está representada a superfície de resposta da remoção de CQO em função da concentração de alcalinidade e do teor de SSV, é visível que a remoção de CQO é máxima para aproximadamente 2,00 gKHCO<sub>3</sub>/L e 10,00 gSSV/L, corroborando o que foi referido anteriormente.

### 3.1.7.3. Fator metano/soro

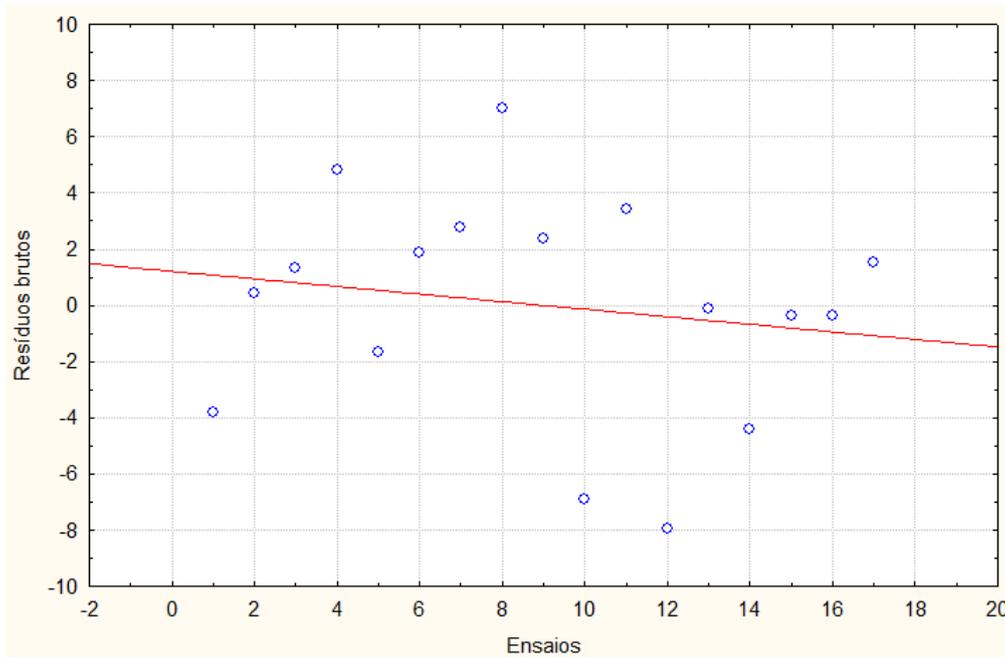
Na Figura 3.19 está representado o gráfico que relaciona os valores experimentais observados e os valores previstos do fator metano/soro.



**Figura 3.19-** Representação gráfica da relação entre os valores experimentais observados e os valores previstos do fator metano/soro.

A linha diagonal vermelha e os pontos azuis representados no gráfico da Figura 3.19, correspondem aos valores previstos e aos valores observados, respectivamente. Os pontos que se encontram acima da linha indicam que o valor observado é superior ao valor previsto, enquanto que os pontos que se encontram abaixo da linha indicam que o valor observado é inferior ao valor previsto. O coeficiente de correlação da reta que representa os valores previstos é de 0,49. Por aplicação da “Regra do Polegar” (*Rule of Thumb*), que declara que existe uma relação linear significativa se  $r^2 \geq 2/\sqrt{n}$ , em que  $n$  são o número de ensaios, existe uma relação linear significativa, pois  $0,49 \geq 2/\sqrt{17} \Leftrightarrow 0,49 \geq 0,49$ .

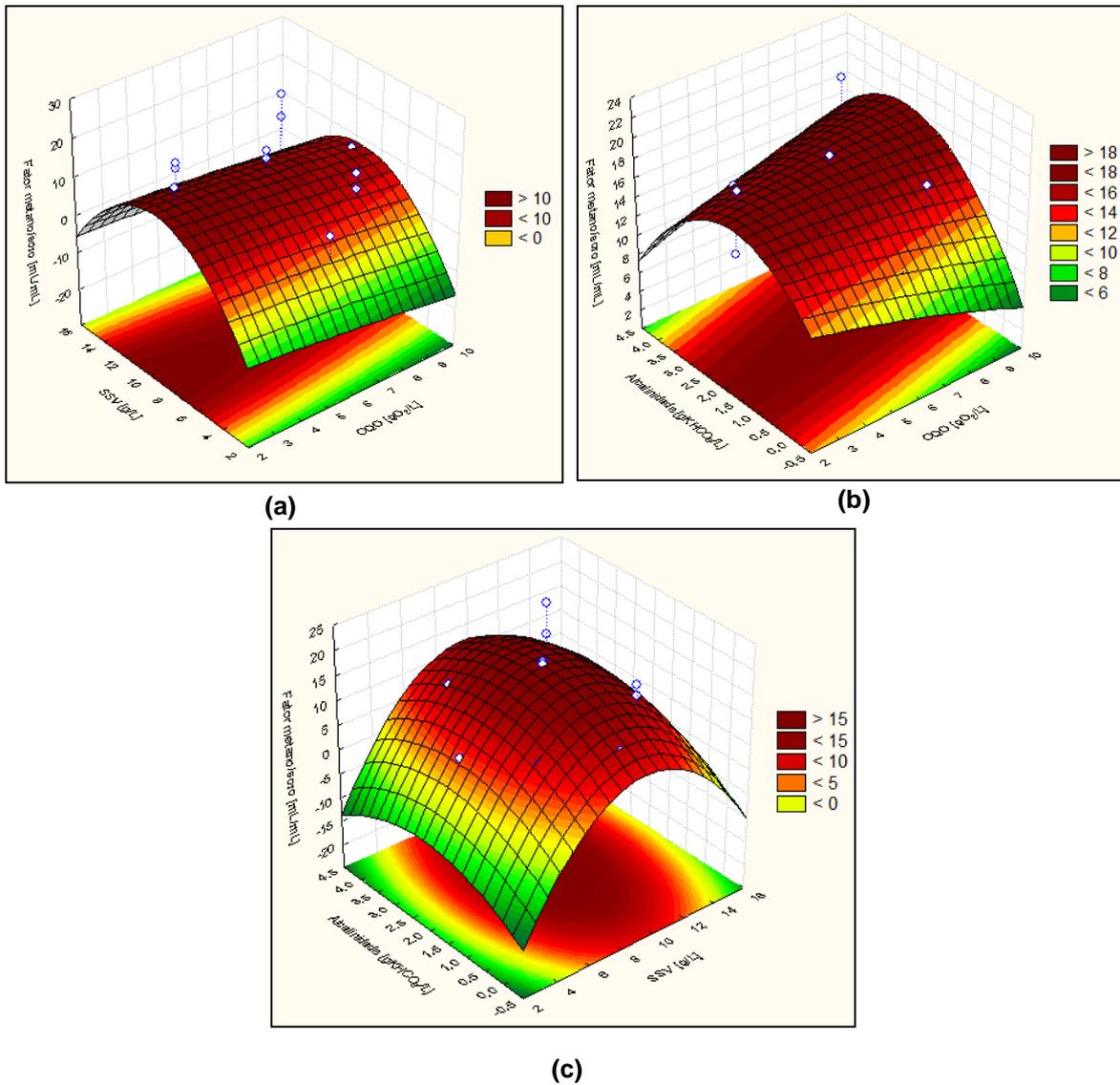
Na Figura 3.20 está representada a relação entre os valores dos resíduos brutos observados e dos resíduos brutos previstos do fator metano/soro para cada ensaio realizado.



**Figura 3.20-** Representação gráfica da relação entre os resíduos brutos observados e os resíduos brutos previstos do fator metano/soro para cada ensaio gerado.

Na Figura 3.20, os valores previstos e os valores observados são simbolizados pela linha diagonal vermelha e pelos pontos azuis, respectivamente. A reta dos valores previstos apresenta um declive reduzido, o que permite inferir que as variáveis de influência estudadas são independentes.

A Figura 3.21 representa as superfícies de resposta obtidas para a variável dependente fator metano/soro. Fizeram-se três combinações de variáveis de influência (CQO e SSV; CQO e alcalinidade; SSV e alcalinidade). Quando a variável bloqueada era a CQO ou a concentração de SSV, o valor destes parâmetros eram os valores centrais (Tabela 2.4; 6,00 [gO<sub>2</sub>/L] para o caso da CQO e 9,00 [gSSV/L] para o caso dos SSV). Quando a variável bloqueada era a alcalinidade, decidiu-se que neste caso o valor deste parâmetro seria 0 (zero), porque como se constatou anteriormente a alcalinidade possui pouca influência (Figura 3.10, 3.11, 3.12) e desta forma simula-se a redução de custos associados à alcalinidade.



**Figura 3.21-** Superfícies de resposta para o fator metano/soro em função da CQO e SSV (a), da Alcalinidade e CQO (b) e Alcalinidade e SSV (c).

Os pontos azuis na Figura 3.21 representam valores experimentais.

No gráfico da Figura 3.21 (a), verifica-se que o fator metano/soro diminui à medida que a CQO aplicada aumenta, sendo que o pico deste fator é atingido para uma CQO de 2,00 gO<sub>2</sub>/L. Também é visível que à medida que se aumenta a concentração de SSV, o fator metano/soro aumenta até atingir o seu máximo quando a concentração de SSV é aproximadamente 10 g/L. Para concentrações superiores a 10 g/L de SSV o fator metano/soro volta a diminuir.

Através da Figura 3.21 (b), onde está representada a superfície de resposta do fator metano/soro em função da concentração de alcalinidade e da CQO, verifica-se que é possível manter um fator metano/soro máximo constante à medida que a CQO aumenta, desde que a quantidade de alcalinidade também aumente. Este sucedido revela a importância da adição de alcalinidade à medida que se aumenta a CQO aplicada, visto que como a matéria orgânica presente no soro de leite se encontra na forma solúvel, resulta numa rápida transformação da matéria orgânica em AOV, baixando o pH a níveis que inibem a metanogénese, podendo resultar na instabilidade ou na falência dos reatores (Rico *et al.*, 2015).

A Figura 3.21 (c) corrobora o que foi dito anteriormente relativamente ao facto de que 10 g/L de SSV é a concentração deste parâmetro que mais favorece o fator metano/soro. Relativamente à concentração de alcalinidade, o gráfico mostra que o fator metano/soro é máximo para 2 gKHCO<sub>3</sub>/L de alcalinidade, contudo, neste caso a variável independente bloqueada neste gráfico foi a CQO (6,00 gO<sub>2</sub>/L), por isso, para uma CQO aplicada diferente a concentração de alcalinidade ótima será também diferente.

## **3.2. 2ª fase – Adaptabilidade da biomassa**

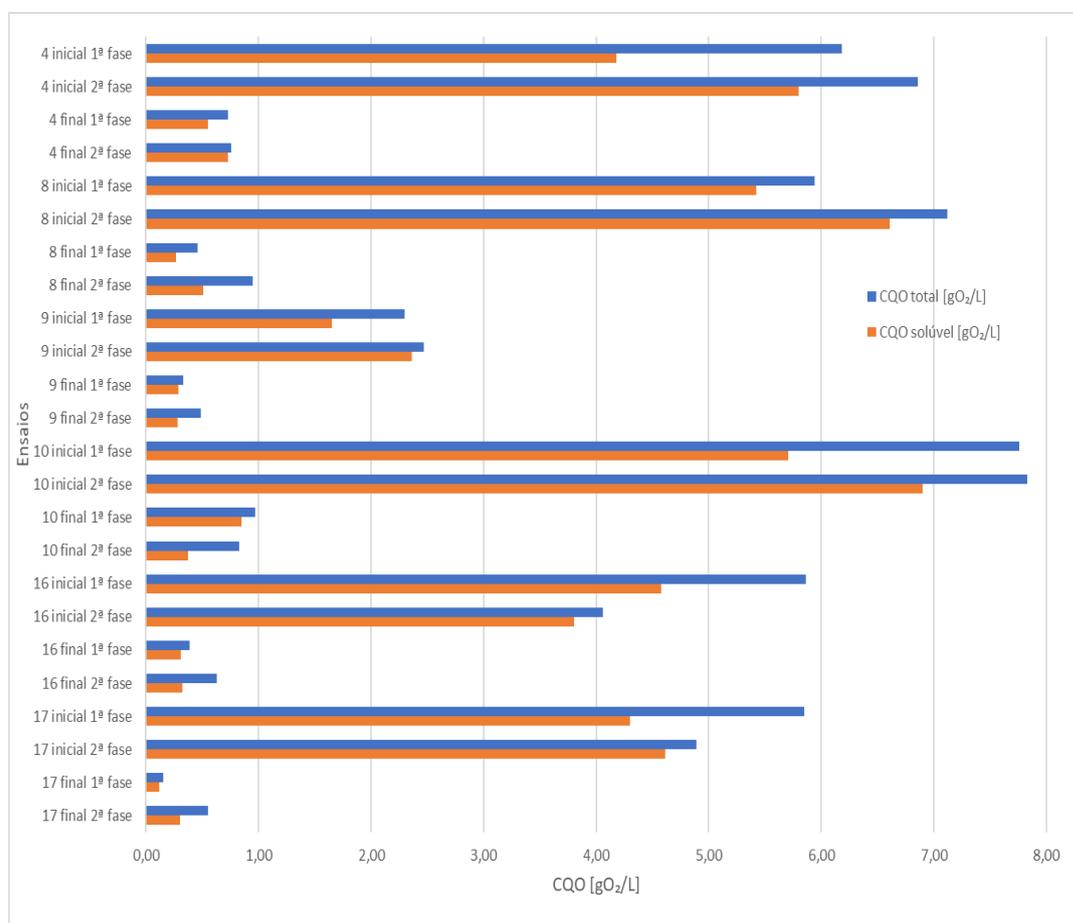
Na segunda fase do trabalho experimental, repetiram-se os 6 ensaios da primeira fase que demonstraram melhor desempenho, em termos da eficiência de remoção da CQO, eficiência de metanização e volume de metano gerado. A repetição destes ensaios visava avaliar a adaptabilidade da biomassa.

Os reatores foram operados durante cerca de 25 dias. Foram monitorizados os seguintes parâmetros: CQO total, CQO solúvel, SST, SSV, AOV, pH e a condutividade do conteúdo dos reatores no início e no final do período de incubação. Ao longo do período de incubação, o volume de biogás e a sua composição, nomeadamente em termos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram também

monitorizados. A apresentação dos resultados referentes ao início do período de incubação e ao seu final é realizada nas mesmas secções.

### 3.2.1. Carência química de oxigénio total (CQO<sub>total</sub>) e solúvel (CQO<sub>solúvel</sub>)

Os teores da CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da 2ª fase são apresentados na Figura 3.22, juntamente com os valores dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos. Os valores também podem ser consultados na tabela do Anexo 7.10.



**Figura 3.22-** CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

Através da análise da Figura 3.22 pode-se constatar que os valores de CQO iniciais dos reatores da 2ª fase apresentam alguma variabilidade face aos valores desejados, representados na Tabela 2.5, possivelmente devido à presença de

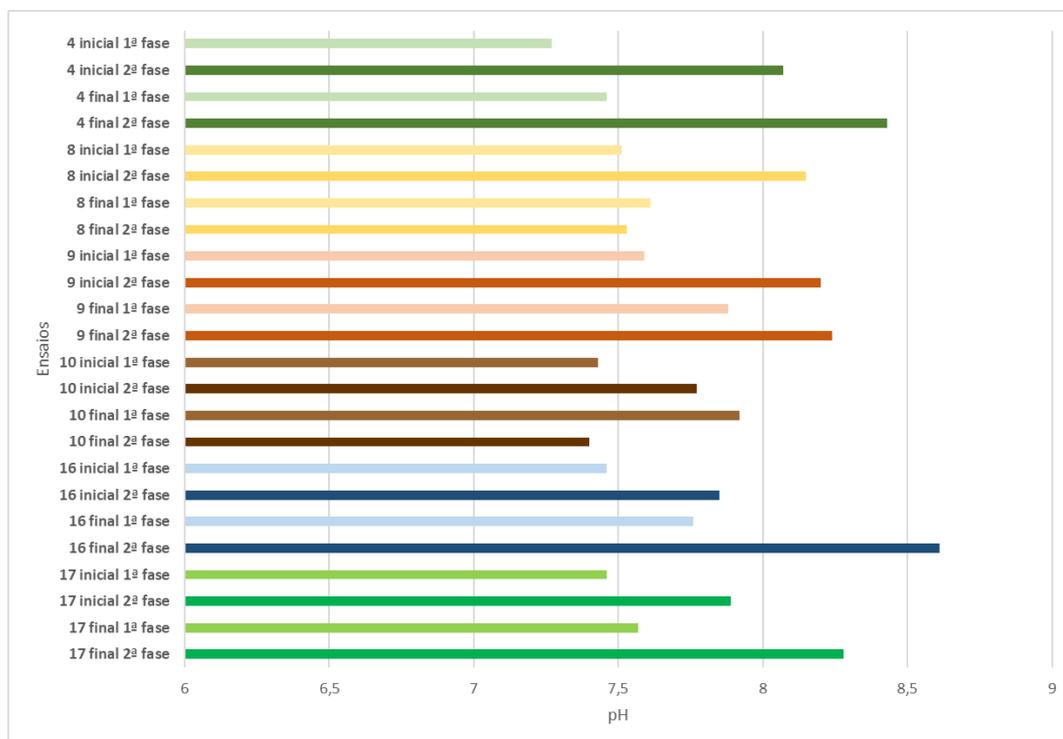
sólidos e gorduras no soro de leite. A maior parte da matéria orgânica inicial encontrava-se na forma solúvel, como seria de esperar.

Durante o período de incubação, os valores de CQO total e solúvel diminuíram em todos os reatores, o que permite depreender que parte da matéria orgânica inicial foi removida. No final do período de incubação a maior parte matéria orgânica encontrava-se na forma solúvel.

Através da comparação dos valores da CQO final dos ensaios da 2ª fase com os valores dos ensaios da 1ª fase (Figura 3.22), verifica-se que, à exceção do reator 10, os valores são superiores nos ensaios da 2ª fase. Este sucedido pode se dever a alguma matéria orgânica de difícil degradação que se encontrava juntamente com a biomassa reutilizada.

### 3.2.2. pH

Na Figura 3.23 estão apresentados os valores de pH no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos reatores da 1ª fase que foram repetidos.



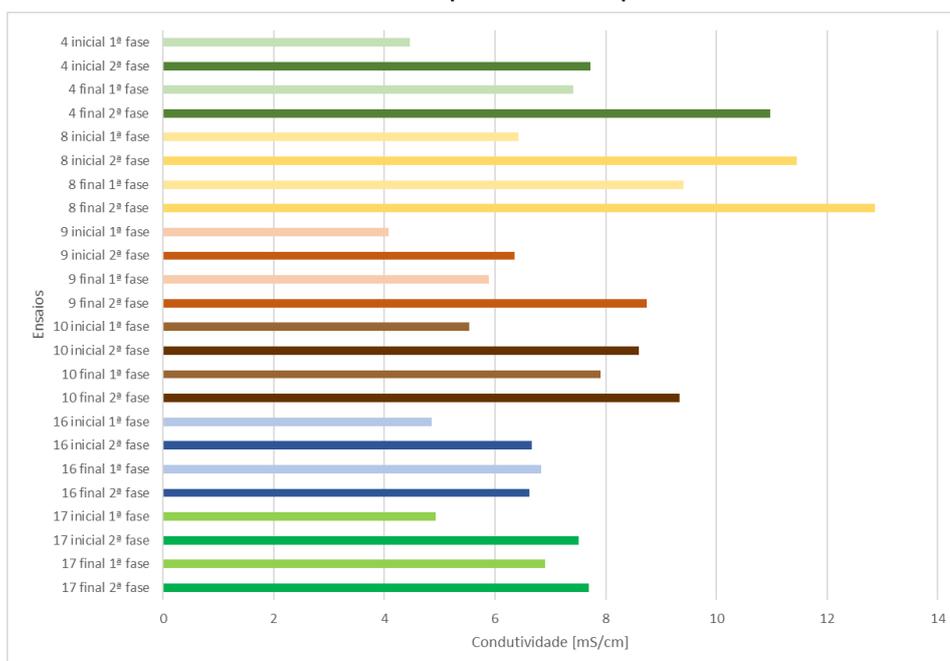
**Figura 3.23-** pH no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos reatores da 1ª fase que foram repetidos.

Conforme pode ser constatado pela análise da Figura 3.23, no início do período de incubação dos ensaios da segunda fase, todos os reatores apresentavam um pH ligeiramente superior a 7,5, o que coloca este parâmetro fora da gama ótima, que é entre 7,0 e 7,5 para os microrganismos anaeróbios, segundo (Schnürer and Jarvis, 2018). No final do período de incubação, não se verificou um comportamento comum entre os ensaios. Em alguns verificou-se um aumento do pH e noutros uma diminuição. Nos reatores em que se verificou a diminuição do valor do pH, apenas com uma exceção (reator 10, a operar com 9,36 gCQO/L; 9,00 gSSV/L; 2,00 g alcalinidade/L), esta diminuição não foi suficiente para colocar o valor de pH dentro da gama ótima (entre 7,0 e 7,5).

Comparando os valores de pH dos ensaios da primeira fase com os valores de pH dos ensaios da segunda fase, pode inferir-se que, na generalidade, durante a segunda fase, tanto no início como no final do período de incubação, os valores de pH são superiores do que na primeira fase. Este sucedido pode ser explicado pela presença de alguma amónia na biomassa reutilizada.

### 3.2.3. Condutividade

Os valores de condutividade dos reatores da 2ª fase do trabalho experimental são apresentados na Figura 3.24, juntamente com os valores de condutividade dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.



**Figura 3.24-** Condutividade no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

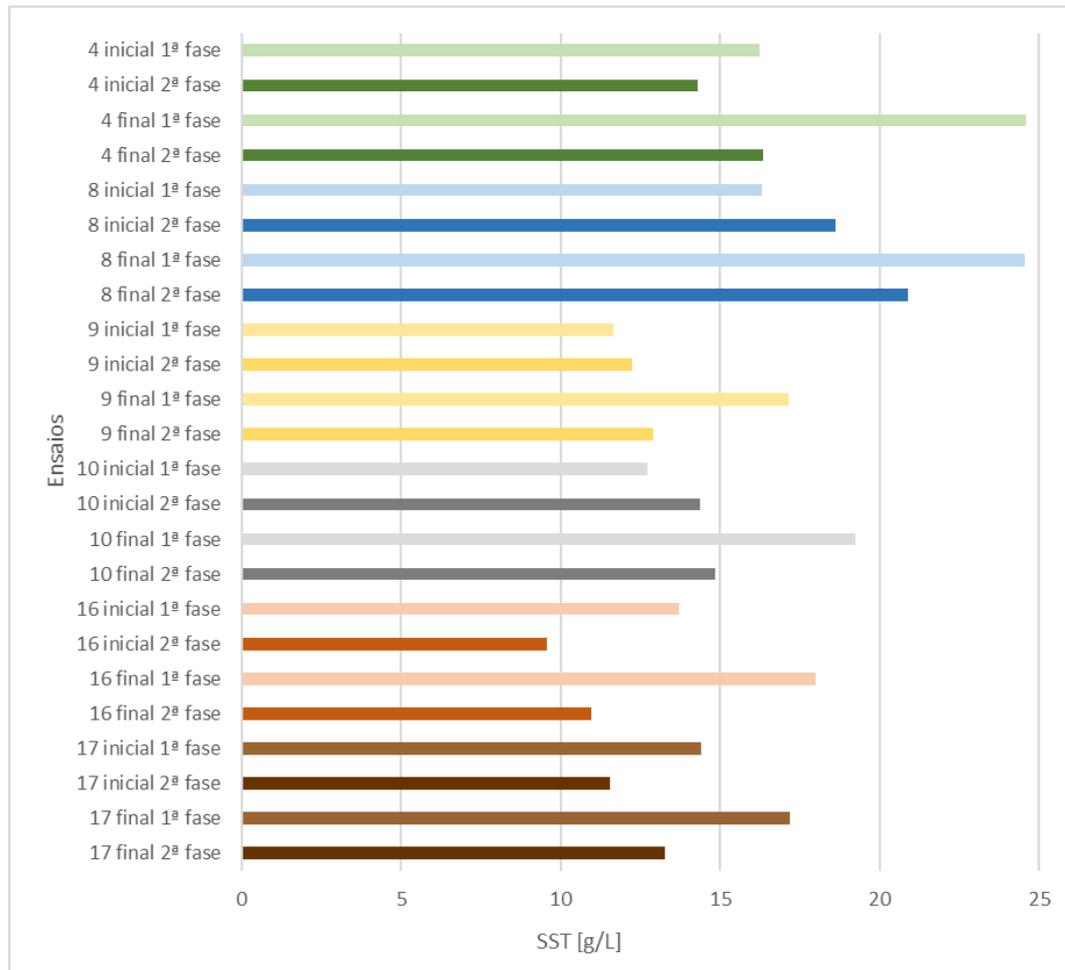
Da análise da Figura 3.24, verifica-se que ocorreu um aumento dos valores da condutividade nos ensaios da segunda fase durante o período de incubação, à semelhança do que ocorreu durante os ensaios da 1ª fase, possivelmente devido à libertação de catiões durante a decomposição do substrato (Schnürer and Jarvis, 2018). Nos ensaios da 2ª fase é possível verificar uma relação entre a quantidade da solução de alcalinidade adicionada aos reatores (Tabela 2.5) e a condutividade dos reatores, constatada também nos reatores da 1ª fase (Figura 3.24). Verificou-se que quanto maior o volume da solução de alcalinidade adicionada maior a condutividade dos reatores. Esta relação pode estar relacionada com a capacidade que os compostos de alcalinidade possuem em contribuir para a condutividade, como já foi verificado em alguns estudos (Grady Jr, C.P.L., Daigger, G.T., Lim, 1992). Esperava-se que a condutividade aumentasse com a quantidade de soro adicionado, contudo, isso não se verificou, provavelmente a quantidade de soro adicionada aos reatores não foi suficiente para notabilizar a contribuição do soro de leite na condutividade.

Na generalidade, os valores de condutividade da 2ª fase são superiores aos da 1ª fase, tanto no início como no fim do período de incubação, como se pode constatar através da Figura 3.24. Este sucedido pode estar relacionado com a acumulação de catiões, de compostos de alcalinidade e de sal na biomassa reutilizada.

Os valores de condutividade dos reatores no momento do arranque e no final do período de incubação eram inferiores à gama (15,9 a 22,0 mS/cm), que segundo (Mohee and Mudhoo, 2012) pode provocar uma redução de 50% da atividade dos microrganismos.

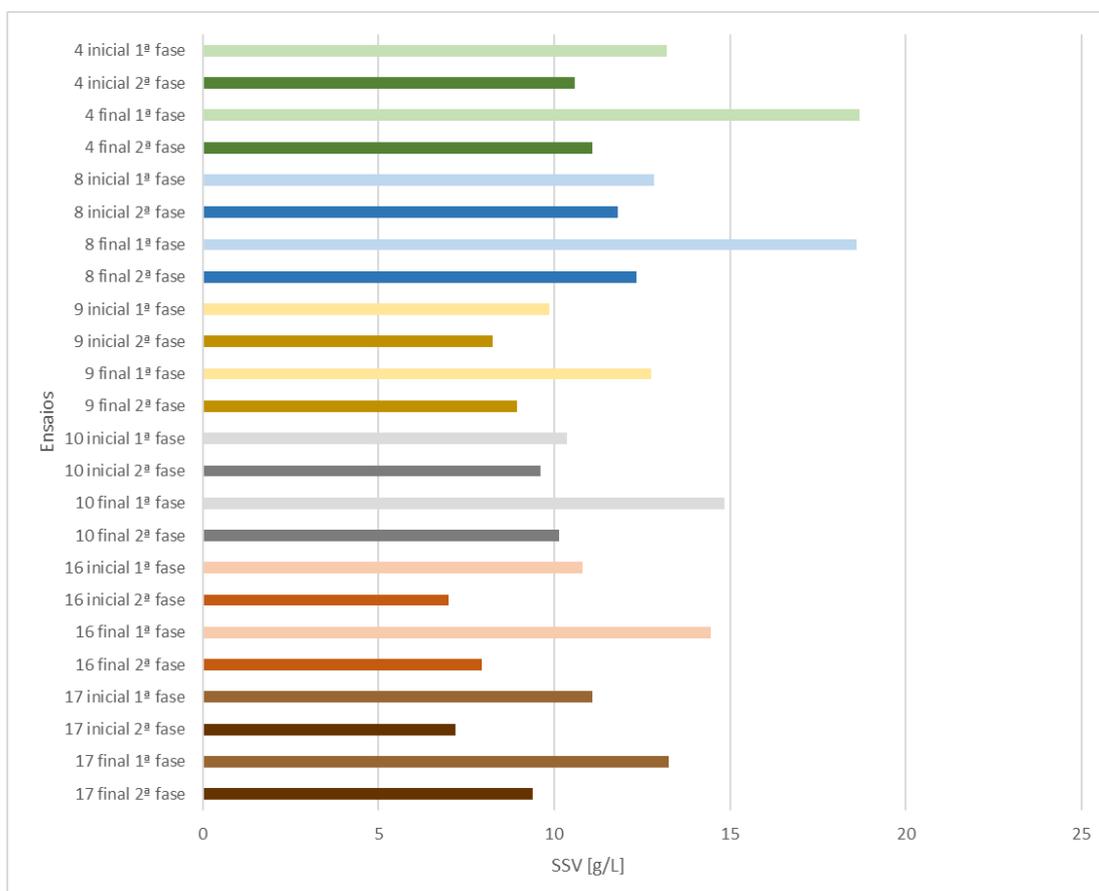
### 3.2.4. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV)

As concentrações de sólidos suspensos totais no arranque e no final do período de incubação dos reatores da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos são apresentados na Figura 3.25.



**Figura 3.25-** Sólidos suspensos totais (SST) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

A Figura 3.26 apresenta as concentrações de SSV nos reatores descontínuos da 2ª fase, juntamente com as concentrações de SSV dos reatores da 1ª fase que foram repetidos.

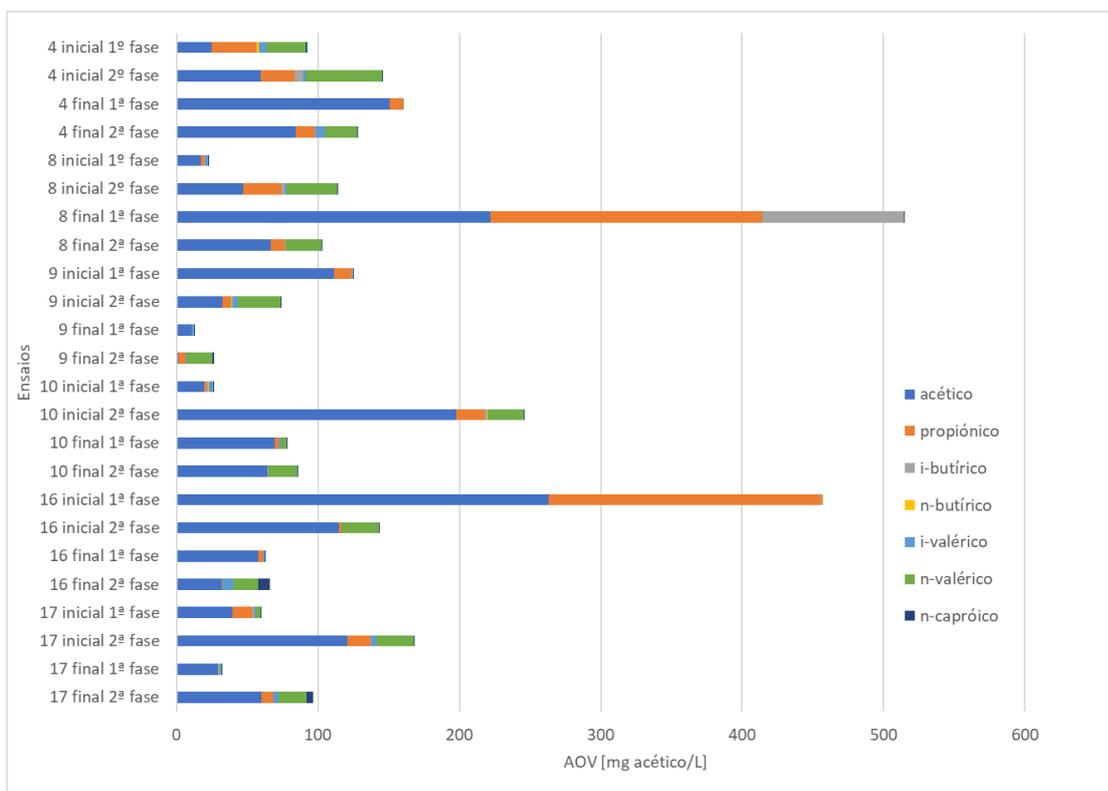


**Figura 3.26-** Sólidos suspensos voláteis (SSV) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

Os resultados apresentados nas Figuras 3.25 e 3.26 demonstram que ocorreu um aumento da concentração de SST e de SSV durante os ensaios da 2ª fase, à semelhança do que aconteceu durante a 1ª fase, no entanto, o aumento destes parâmetros durante a segunda fase foi menos expressivo, provavelmente, devido ao facto de que a salinidade dos ensaios da 2ª fase ter sido superior e o pH se encontrava ligeiramente fora da gama ótima (Figura 3.23 e Figura 3.24), inibindo o crescimento da biomassa. Para além disso, no início da 2ª fase a concentração de SSV era inferior do que no começo dos ensaios da 1ª fase, por isso, a quantidade de microrganismos inicial para procriação no início da 2ª fase era inferior do que na 1ª fase. O aumento da concentração de SST durante o período de incubação, deveu-se principalmente ao aumento do teor de SSV. Na generalidade, verifica-se que quanto maior é a concentração de SST e SSV inicial, maior é o aumento destes parâmetros durante o período de incubação.

### 3.2.5. Ácidos orgânicos voláteis (AOV)

Na Figura 3.27 está apresentado o peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos ensaios da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.



**Figura 3.27-** Peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

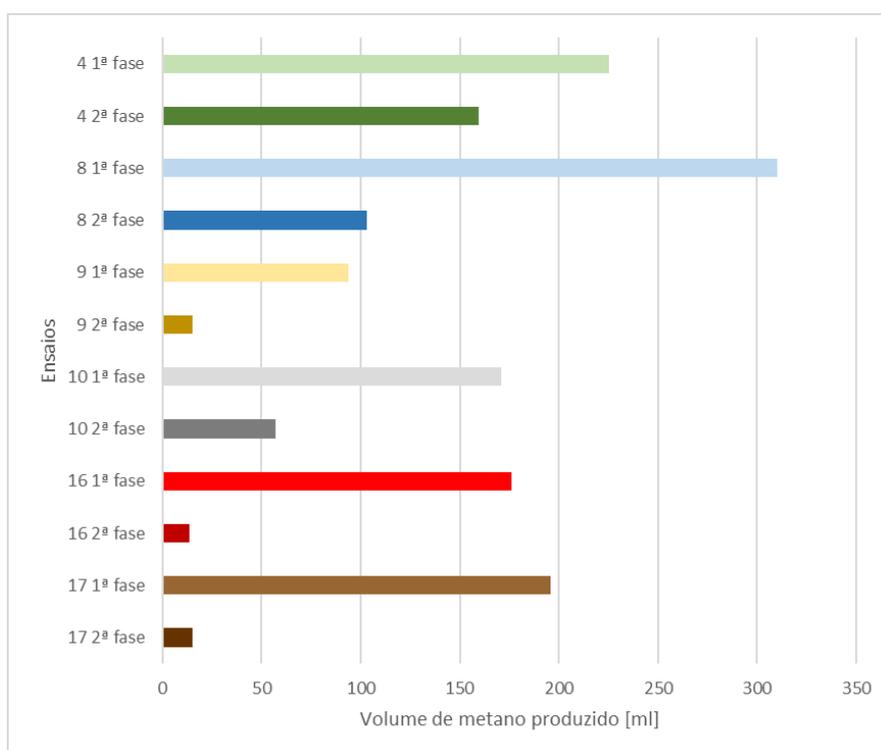
Através da análise da Figura 3.27, pode-se constatar que, no geral, o ácido acético, seguido pelo ácido n-valérico e pelo ácido propiônico são os AOV mais predominantes no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase. Constatou-se também que nos ensaios da 2ª fase, a quantidade de AOV diminuiu durante o período de incubação, à semelhança do que aconteceu com os reatores da 1ª fase, o que poderá ter contribuído para o aumento do pH (Figura 3.23). A redução da concentração de AOV nos reatores sugere que os microrganismos metanogênicos degradaram os AOV e que não ocorreram episódios de inibição que impedissem a metanogênese.

A concentração total de AOV foi inferior ao limiar de toxicidade (3 000 mg acético/L) (Malina and Pohland, 1997) em todos os ensaios.

## 3.2.6. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

### 3.2.6.1. Produção de metano

Os valores de metano produzido pelos reatores descontínuos da segunda fase são apresentados na Figura 3.28, juntamente com os volumes dos ensaios da 1<sup>o</sup> fase que foram repetidos.



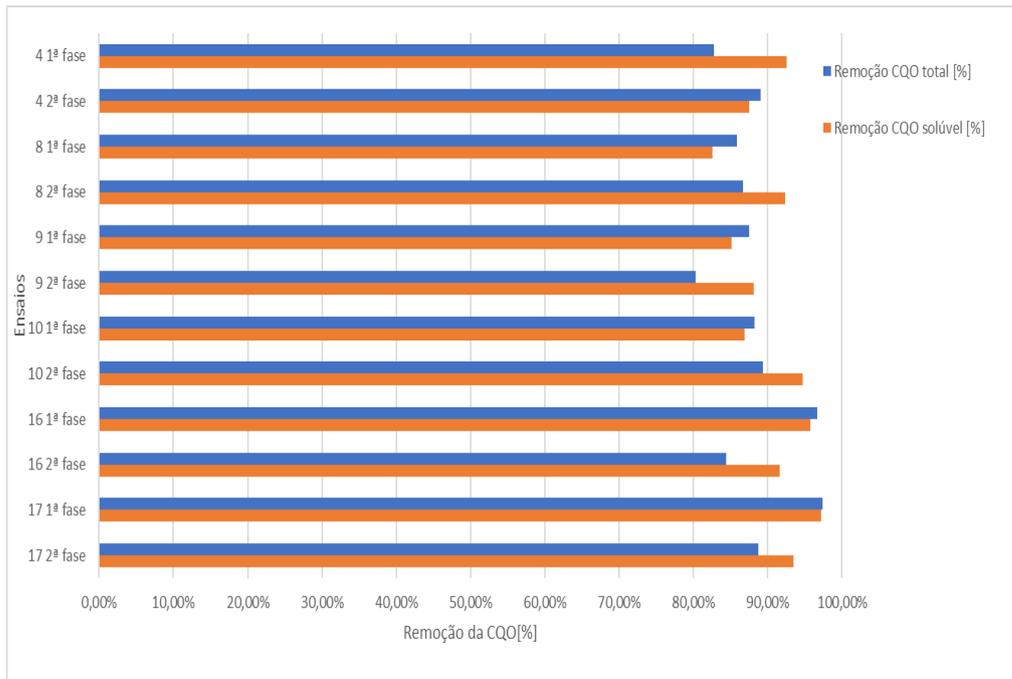
**Figura 3.28-** Volume de metano gerado pelos reatores descontínuos da 2ª fase e pelos reatores da 1ª fase que foram repetidos.

Da análise do gráfico da Figura 3.28, pode-se constatar que a produção de metano foi consideravelmente menor durante a 2ª fase face à 1ª fase, possivelmente devido ao facto de que a salinidade dos ensaios da 2ª fase ter sido superior e ao facto de que o pH não se encontrava na gama ótima (Figura 3.23 e Figura 3.24), o que terá causado efeitos adversos nos microrganismos (Kargi and Dincer, 1996).

Da bateria de reatores realizada na segunda fase, o reator 4 (8,00 gCQO/L; 12,00 gSSV/L; 0,81 g alcalinidade/L) foi o que gerou o maior volume de metano (cerca de 160 mL), seguido pelo reator 8 (8,00 gCQO/L; 12,00 gSSV/L; 3,19 g alcalinidade/L), com um volume de cerca de 104 mL.

### 3.2.6.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

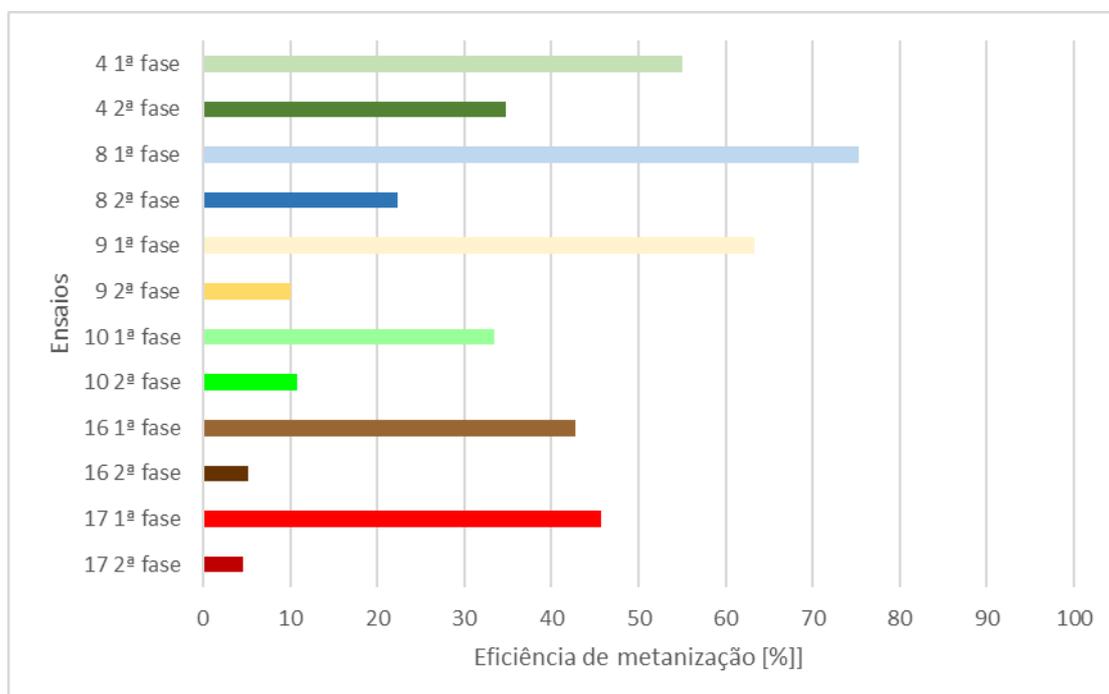
A eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios da segunda fase do trabalho experimental, e dos ensaios da primeira fase que foram repetidos estão representados na Figura 3.29. Estes valores também podem ser consultados no Anexo 7.11, onde são apresentados na forma de uma tabela.



**Figura 3.29-** Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

Os resultados apresentados na Figura 3.29 mostram que a eficiência de remoção da CQO total dos ensaios da 2ª fase variou entre 80 e 90%, e a eficiência de remoção da CQO solúvel variou entre 88 e 95%, aproximadamente. Comparativamente aos ensaios da primeira fase, verifica-se um aumento da eficiência de remoção da CQO total nos ensaios 4, 8 e 10 durante a 2ª fase. Para a CQO solúvel, constata-se um aumento da eficiência de remoção da CQO para os reatores 8, 9 e 10 durante a 2ª fase. O ensaio 10 foi o que atingiu a maior eficiência de remoção da CQO total e da CQO solúvel na segunda fase (89,40 e 94,71%, respectivamente).

Na Figura 3.30 são apresentados os valores de eficiência de metanização dos ensaios descontínuos da segunda fase, bem como os valores de eficiência de metanização dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.



**Figura 3.30-** Eficiência de metanização dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos reatores da 1ª fase que foram repetidos.

Através da Figura 3.30 verifica-se que a eficiência de metanização dos ensaios da 2ª fase diminuíram face aos ensaios da 1ª fase. Este sucedido está possivelmente ligado ao aumento da salinidade dos reatores na 2ª fase (Figura 3.13) e ao facto de que o pH se encontrava fora da gama ótima (Figura 3.12), o que terá causado efeitos adversos nos microrganismos (Kargi and Dincer, 1996).

O reator 4 (8,00 gCQO/L; 12,00 gSSV/L; 0,81 g alcalinidade/L) foi o reator que atingiu uma maior eficiência de metanização (34,78%) durante a 2ª fase do trabalho experimental.

### **3.3. 3ª fase – Influência do *biochar* e da sua granulometria**

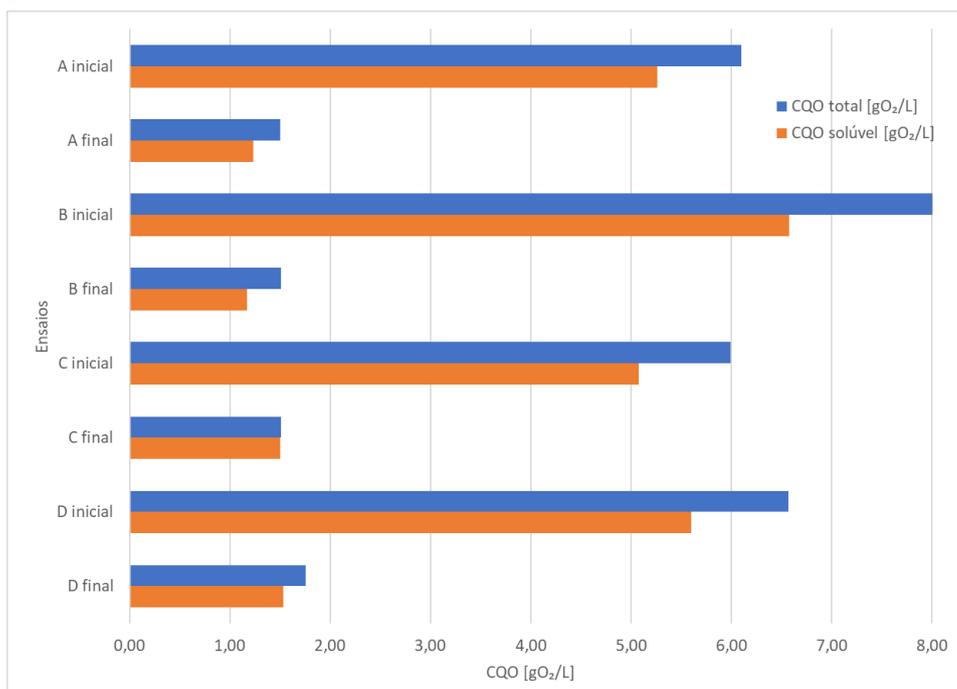
Na terceira fase do trabalho experimental, foram realizados 4 ensaios descontínuos (descritos na secção 2.5.2), com o intuito de avaliar a influência do *biochar* e da sua granulometria na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade.

Nos reatores B e C foi adicionada 1 grama de *biochar* e os restantes reatores serviram de réplicas de controlo (A e D). No reator B foi adicionado uma grama de *biochar* com uma granulometria de 1,00 a 2,00 mm e no reator C foi adicionado uma grama de *biochar* com uma granulometria de <1,00 mm.

Os reatores foram operados durante cerca de 40 dias. Foram monitorizados os seguintes parâmetros: CQO total, CQO solúvel, SST, SSV, AOV, pH e a condutividade do conteúdo dos reatores no início e no final do período de incubação. Ao longo do período de incubação, o volume de biogás e a sua composição em termos de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foram monitorizados. A apresentação dos resultados referentes ao início do período de incubação e ao seu final é realizada nas mesmas secções.

### 3.3.1. Carência química de oxigénio total (CQO<sub>total</sub>) e solúvel (CQO<sub>solúvel</sub>)

As concentrações de CQO total e solúvel no momento do arranque e no final do período de incubação dos ensaios descontínuos da 3<sup>a</sup> fase são apresentados na Figura 3.31.



**Legenda:** Reatores A e D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

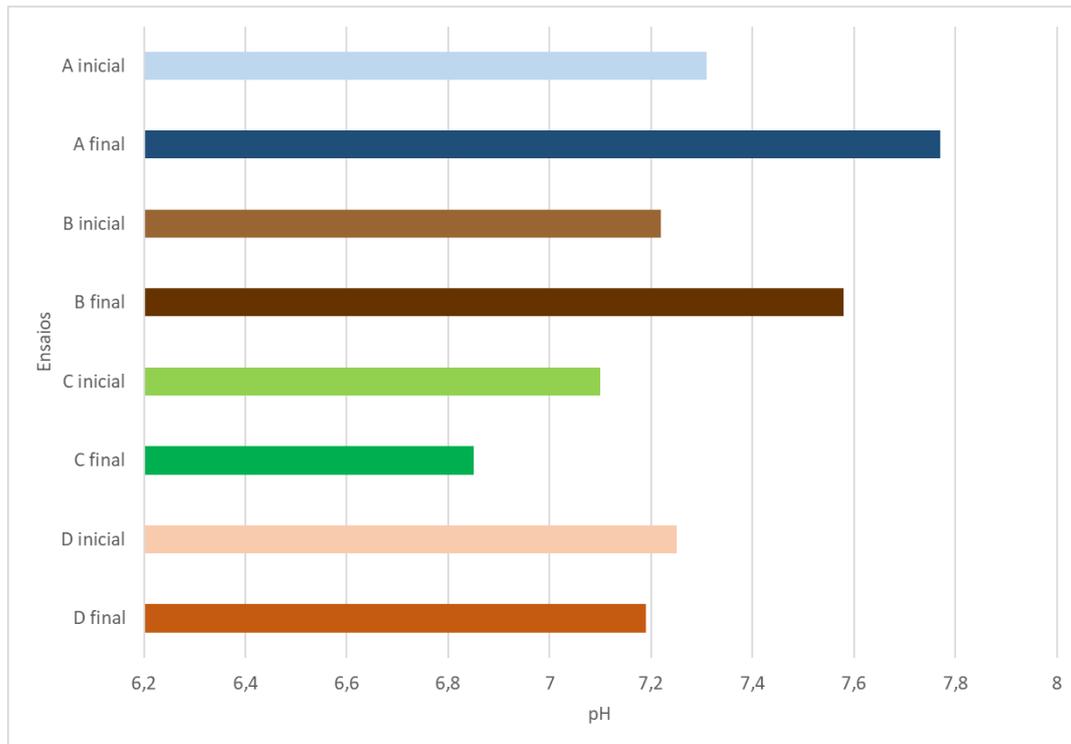
**Figura 3.31-** CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3<sup>a</sup> fase.

A análise da Figura 3.31 permite constatar que os valores de CQO iniciais dos reatores da 3<sup>a</sup> fase apresentam alguma variabilidade face aos valores desejados (Tabela 2.7), possivelmente devido à presença de pedaços de queijo e gordura no soro de leite. A maior parte da matéria orgânica inicial encontrava-se na forma solúvel, como era expectável.

Tanto a CQO total como a solúvel dos ensaios da 3<sup>a</sup> fase decresceram durante o período de incubação, mostrando que parte da matéria orgânica inicial foi removida (Figura 3.31).

### 3.3.2. pH

Na Figura 3.32 estão apresentados os valores de pH no momento de arranque e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase.



**Legenda:** Reatores A; D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

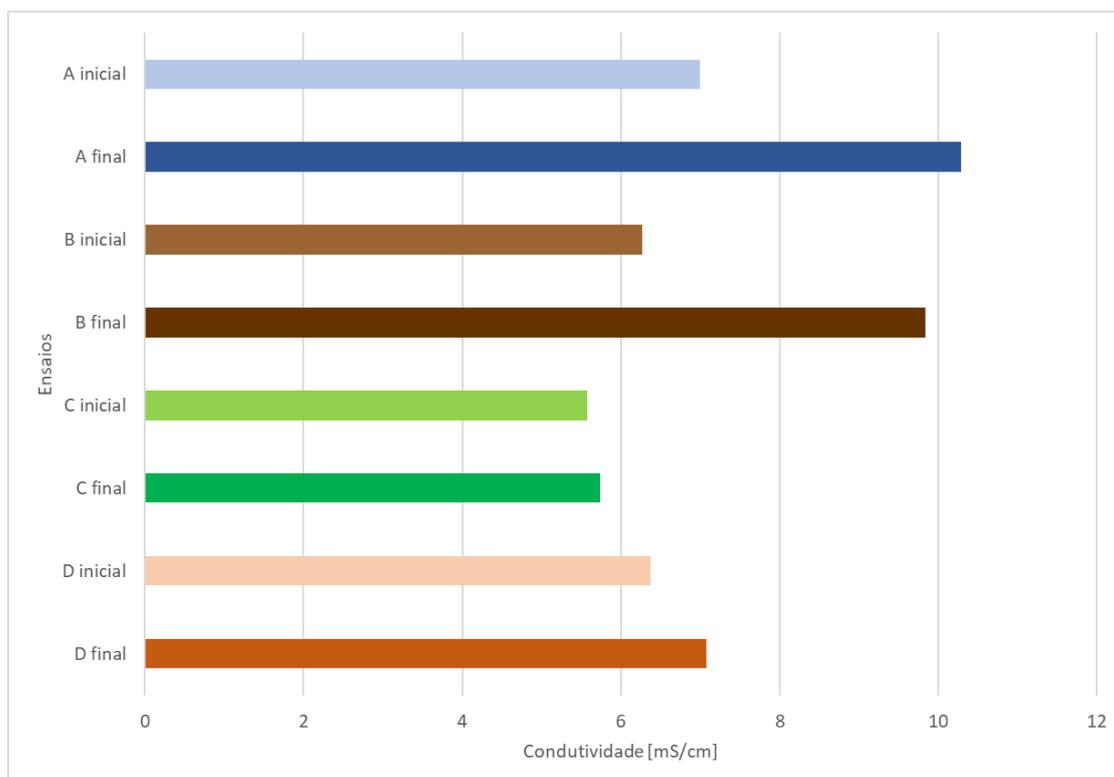
**Figura 3.32-** pH no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase.

Como se pode verificar pela análise da Figura 3.32, no arranque do período de incubação dos ensaios da terceira fase, todos os reatores estavam dentro da gama ótima de pH para os microrganismos anaeróbios, que é entre 7,0 e 7,5, segundo (Schnürer and Jarvis, 2018). No final do período de incubação, apenas o reator D tinha o pH dentro da gama ótima. Os reatores A e B estavam ligeiramente acima da gama e o reator C ligeiramente abaixo.

Os reatores com *biochar* apresentaram uma variação de pH mais acentuada do que um dos reatores de controlo (reator D), apesar da capacidade reconhecida do *biochar* de aumentar a alcalinidade (Sunyoto *et al.*, 2016).

### 3.3.3. Condutividade

Os valores de condutividade no arranque e no final do período de incubação dos reatores da 3ª fase do trabalho experimental são apresentados na Figura 3.33.



**Legenda:** Reatores A; D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

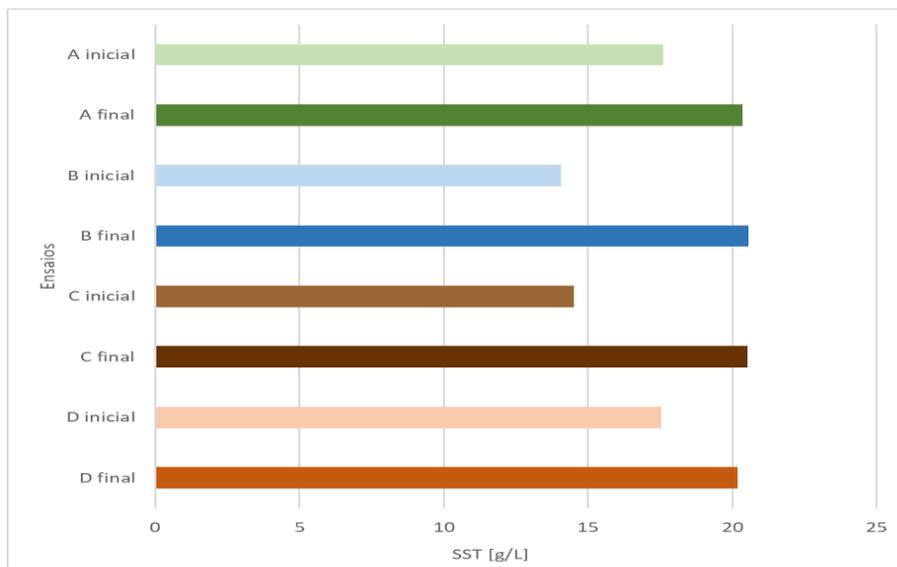
**Figura 3.33-** Condutividade no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase.

Da análise à Figura 3.33, verifica-se que ocorreu um aumento dos valores de condutividade durante o período de incubação, possivelmente devido á libertação de catiões durante a decomposição do substrato (Schnürer and Jarvis, 2018).

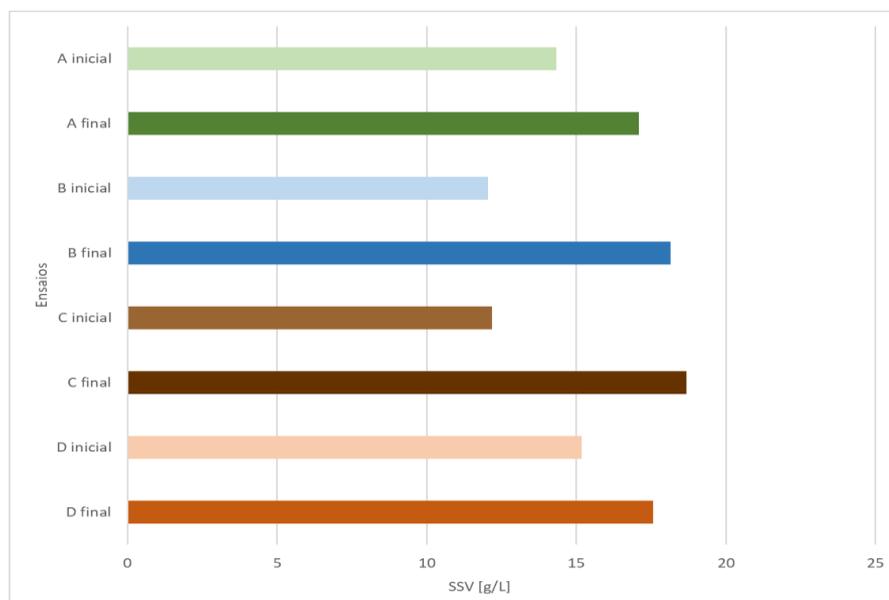
Os valores de condutividade dos reatores no momento do arranque e no final do período de incubação eram inferiores à gama (15,9 a 22,0 mS/cm), que segundo (Mohee and Mudhoo, 2012) pode provocar uma redução de 50% da atividade dos microrganismos.

### 3.3.4. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV)

As concentrações de sólidos suspensos totais no arranque e no final do período de incubação dos reatores da 3ª fase do trabalho experimental estão apresentadas na Figura 3.34, e na Figura 3.35 estão apresentadas as concentrações de sólidos suspensos voláteis.



**Figura 3.34-** Concentração de sólidos suspensos totais (SST) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.



**Legenda:** Reatores A; D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

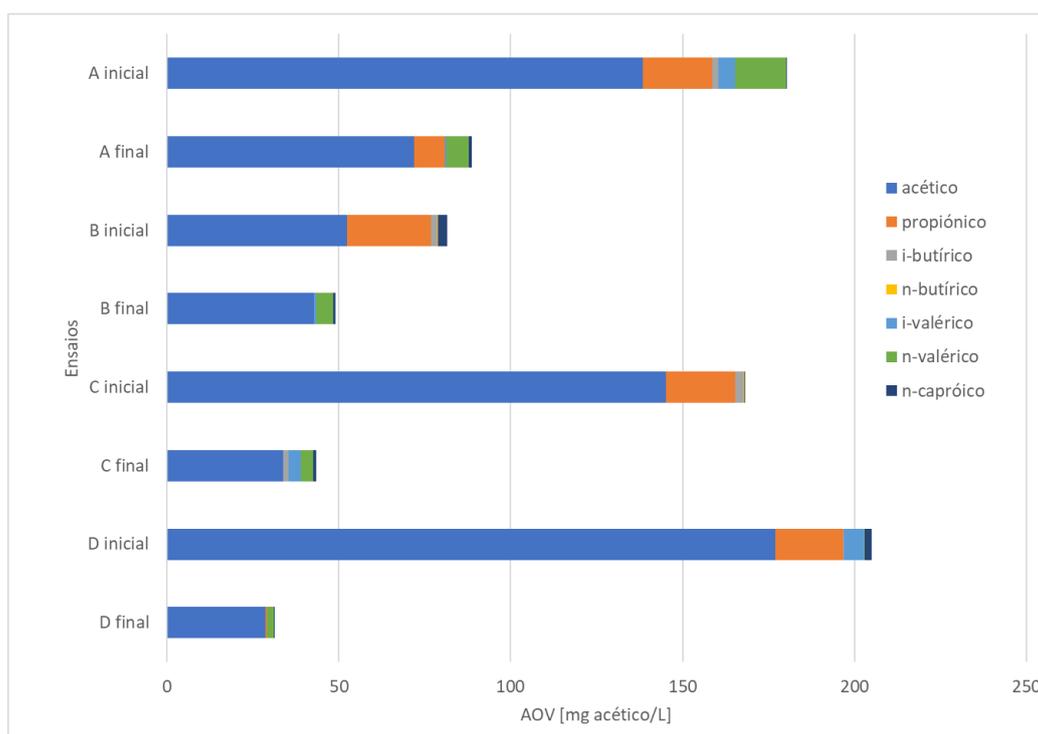
**Figura 3.35-** Concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.

Os resultados apresentados nas Figuras 3.34 e 3.35 demonstram que ocorreu um aumento da concentração de SST e de SSV em todos os ensaios da 3ª fase do trabalho experimental durante o período de incubação, o que permite inferir que ocorreu crescimento celular.

Os reatores B e C tiveram um crescimento celular mais elevado do que os reatores de controlo, corroborando a informação encontrada na bibliografia sobre o efeito do *biochar* na colonização dos microrganismos anaeróbios, onde os autores afirmam que o *biochar* suporta o desenvolvimento e o crescimento dos microrganismos (Luo *et al.*, 2014; Lehmann and Joseph, 2016; Sunyoto *et al.*, 2016).

### 3.3.5. Ácidos orgânicos voláteis (AOV)

Na Figura 3.36 está apresentado o peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.



**Legenda:** Reatores A; D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

**Figura 3.36-** Peso relativo das concentrações de AOV na forma de ácido acético no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.

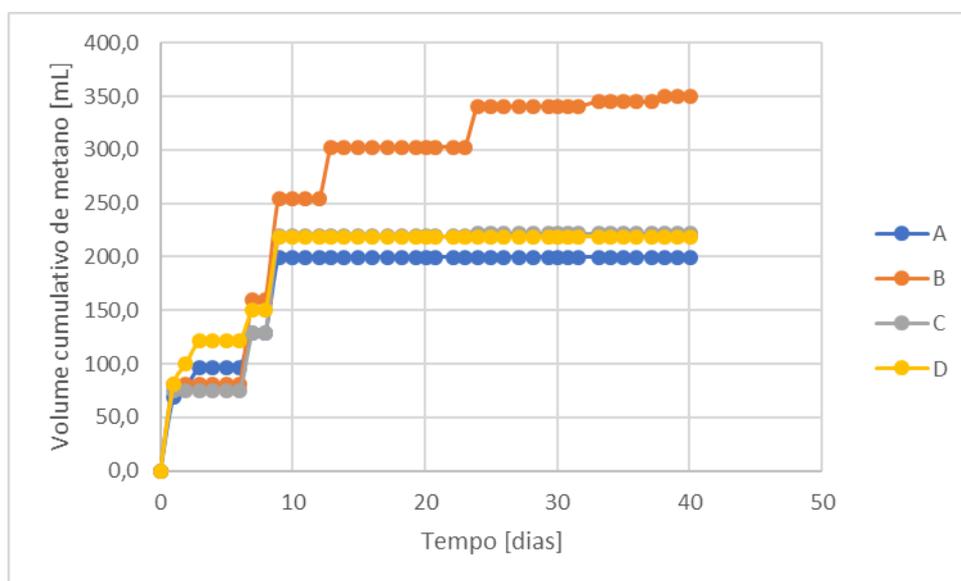
Através da análise da Figura 3.36, pode-se constatar que, no geral, o ácido acético seguido pelo ácido propiónico são os AOV mais preeminentes no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 3ª fase. Constatase também que a quantidade de AOV diminuiu durante o período de incubação, no entanto, apenas os reatores A e B é que sofreram um aumento do pH (Figura 3.32). A redução da concentração de AOV permite inferir que ocorreu a degradação destes ácidos por parte dos microrganismos metanogénicos, e que não ocorreram episódios inibitórios da metanogénese.

Em todos os reatores, a concentração total de AOV foi inferior ao limiar de toxicidade (3 000 mg acético/L) (Malina and Pohland, 1997).

### 3.3.6. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

#### 3.3.6.1. Produção de metano

Os valores de metano produzido pelos reatores descontínuos da terceira fase do trabalho experimental são apresentados na Figura 3.37.



Legenda: Reatores A; D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

**Figura 3.37-** Volume cumulativo de metano dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.

Da análise da Figura 3.37, pode-se constatar que o reator B, no qual foi adicionado *biochar* de granulometria de 1,00 a 2,00 mm numa concentração de 5

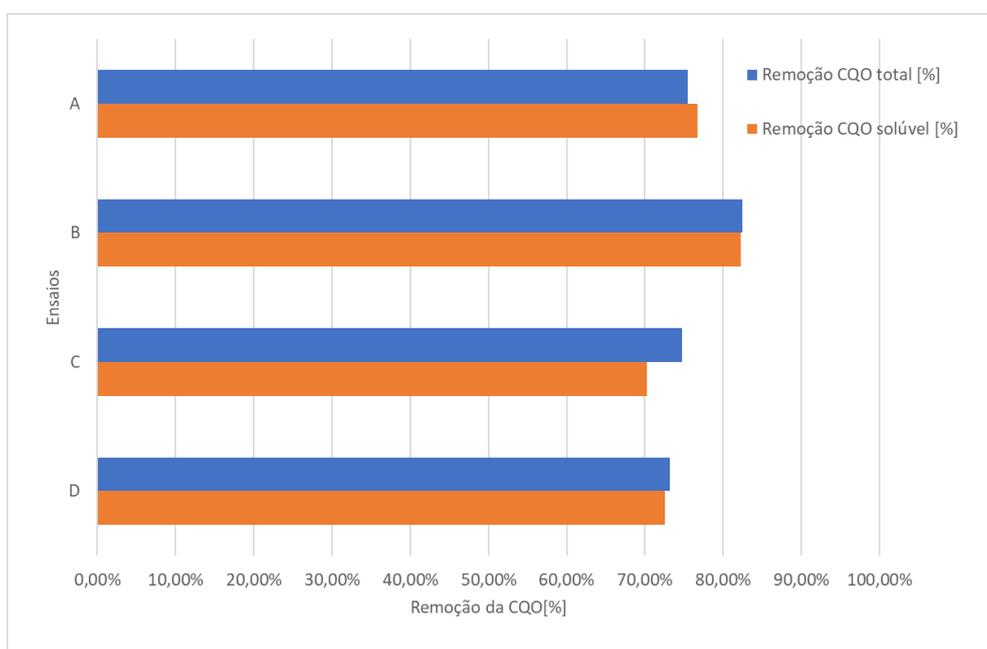
g/L, foi o reator da bateria de ensaios que mais gerou metano (349,38 mL). O reator B produziu mais 74,85 e 59,51% de metano do que o reator de controle A e o reator de controle D, respectivamente.

O reator C, no qual foi adicionado *biochar* de granulometria de < 1,00 mm numa concentração de 5 g/L, produziu 221,90 mL de metano, mais 11,05 e 1,31 % do que a réplica de controle A e a réplica de controle D, respectivamente.

Os resultados obtidos estão em consonância com a informação reportada na literatura, onde os autores afirmam que a aplicação de *biochar* aumenta o volume de metano gerado (Luo *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2015; Lehmann and Joseph, 2016; Sunyoto *et al.*, 2016).

### 3.3.6.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

Os valores da eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental estão representados na Figura 3.38.



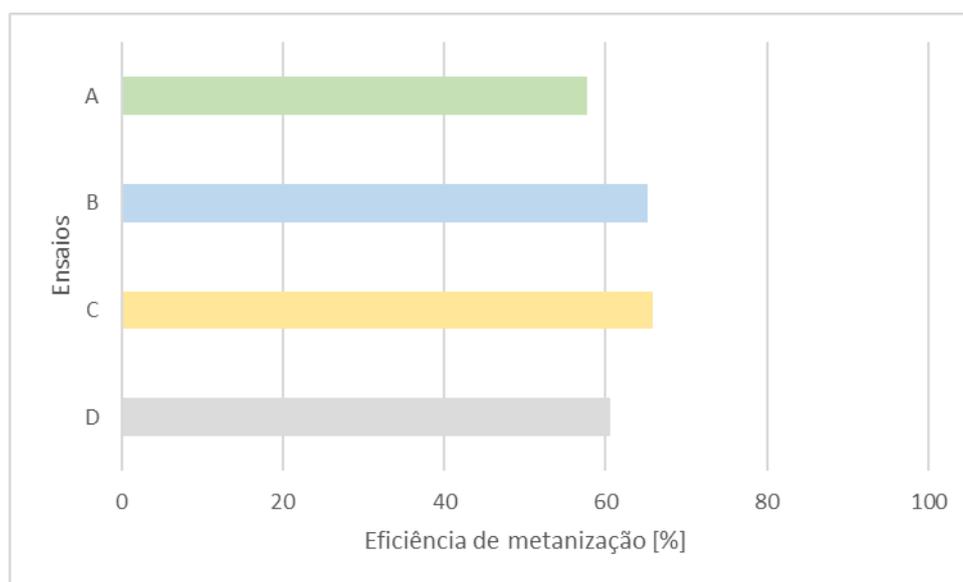
Legenda: Reatores A; D – reatores de controle; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

**Figura 3.38-** Valores da eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios da 3ª fase do trabalho experimental.

Como se pode constatar através da Figura 3.38, o reator B, no qual foi adicionado *biochar* de granulometria de 1,00 a 2,00 mm, foi o reator da bateria de

ensaios que atingiu uma maior eficiência de remoção da CQO total (82,50%) e da CQO solúvel (82,28%). O reator C, no qual também foi adicionado *biochar* (granulometria <1,00 mm), obteve valores de eficiência de remoção da CQO próximos aos valores das réplicas de controlo.

Na Figura 3.39 são apresentados os valores de eficiência de metanização dos ensaios descontínuos da terceira fase.



**Legenda:** Reatores A; D – reatores de controlo; Reator B; C – *biochar* de 1,00 a 2,00 mm; *biochar* <1,00mm

**Figura 3.39-** Eficiência de metanização dos reatores descontínuos da 3ª fase do trabalho experimental.

Através da Figura 3.39 verifica-se que o reator C, no qual foi adicionado *biochar* de granulometria < 1,00 mm, foi o reator da bateria de ensaios que atingiu a eficiência de metanização mais elevada (65,92%), seguido pelo reator B (com *biochar* de granulometria de 1,00 a 2,00 mm), com um valor de eficiência de metanização de 65,19%.

O reator B atingiu uma eficiência de metanização 7,44 e 4,55% superior ao reator de controlo A e ao reator de controlo D, respetivamente.

Comparativamente à réplica de controlo A e à réplica de controlo D, o reator C aumentou a eficiência de metanização em 8,17 e 5,28%, respetivamente.

### 3.4. 4ª fase - Reatores UASB

Com o intuito de estudar a viabilidade da digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores UASB com e sem *biochar*, procedeu-se à realização dos ensaios descritos nas Secções 2.4.2 e 2.5.3. Por razões de disponibilidade de substrato, os reatores operaram em modo descontínuo com recirculação. Na prática, significa que a alimentação e a saída do efluente tratado eram efetuadas no mesmo recipiente. Contudo, quando se iniciava um novo ciclo, optou-se por fazer com que toda a alimentação passasse pelo interior do reator e só depois os reatores passavam a operar em modo descontínuo com recirculação. Desta forma, evitava-se que a gordura ficasse na superfície do líquido, e assim pelo menos uma vez todo o líquido passava pelo interior do reator.

Ao longo da operação dos reatores UASB, o tempo de retenção hidráulico, o caudal e a velocidade ascensional aplicados foram constantes e correspondiam a 12 horas, 0,5 L/h e 0,071 m/h, respetivamente. Ambos os reatores operaram a 5 valores de carga orgânica diferentes (4, 8, 10, 12 e 14 gCQO/L) durante o mesmo período.

Por norma, a primeira análise dos parâmetros do efluente tratado era realizada no dia seguinte à alimentação e, posteriormente, de dois em dois dias.

### 3.4.1. Carência química de oxigênio total (CQO<sub>total</sub>) e solúvel (CQO<sub>solúvel</sub>) da alimentação

Os teores de CQO total e solúvel da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB são apresentados na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5-** CQO total e solúvel da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB.

Ciclo	Reator UASB com <i>biochar</i>		Reator UASB sem <i>biochar</i>	
	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]
I	5,11	3,61	5,16	3,72
II	10,34	6,59	9,16	7,03
III	9,89	6,97	9,86	7,97
IV	4,18	3,18	3,82	3,18
V	6,74	5,67	7,56	5,35
VI	9,01	5,21	9,05	4,88
VII	10,88	8,35	10,14	8,23
VIII	12,03	8,85	11,44	8,31
IX	17,68	12,86	15,84	12,58

A análise da Tabela 3.5 permite constatar que os valores da CQO da alimentação dos ensaios em reatores UASB apresentam alguma variabilidade face aos valores desejados (Tabela 2.10), possivelmente devido à presença de pedaços de queijo e gordura na composição do soro de leite. A maior parte da matéria orgânica presente na alimentação encontrava-se na forma solúvel, como seria de esperar.

### 3.4.2. Carência química de oxigênio total (CQO<sub>total</sub>) e solúvel (CQO<sub>solúvel</sub>) do efluente tratado

A evolução da CQO total do efluente tratado ao longo dos ciclos realizados nos reatores UASB está apresentada na Figura 3.40. Na Figura 3.41 está apresentada a evolução da CQO solúvel do efluente tratado.

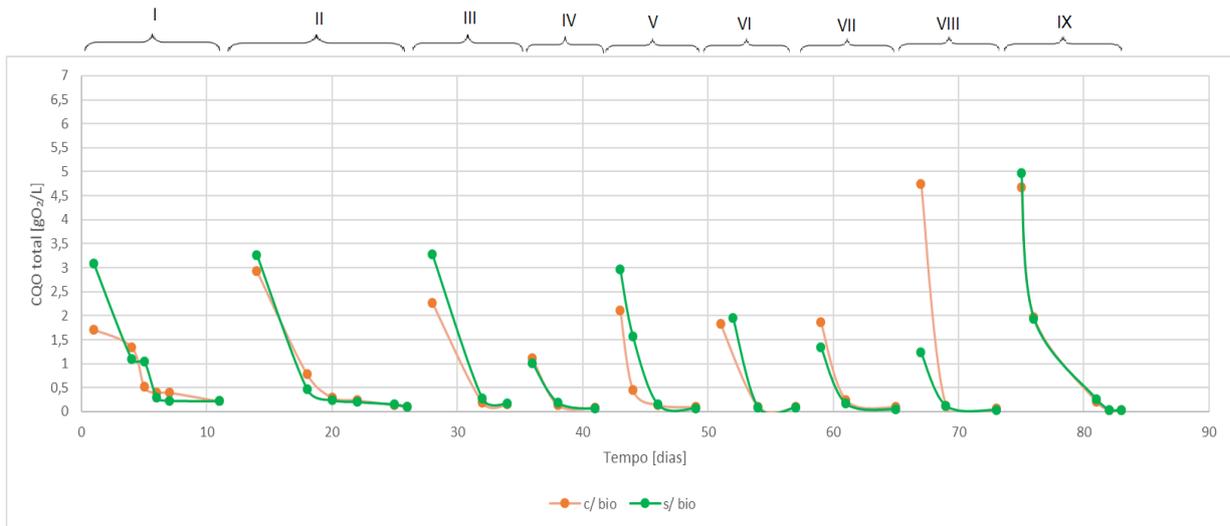


Figura 3.40- Perfil da evolução da CQO total do efluente tratado ao longo dos ciclos.

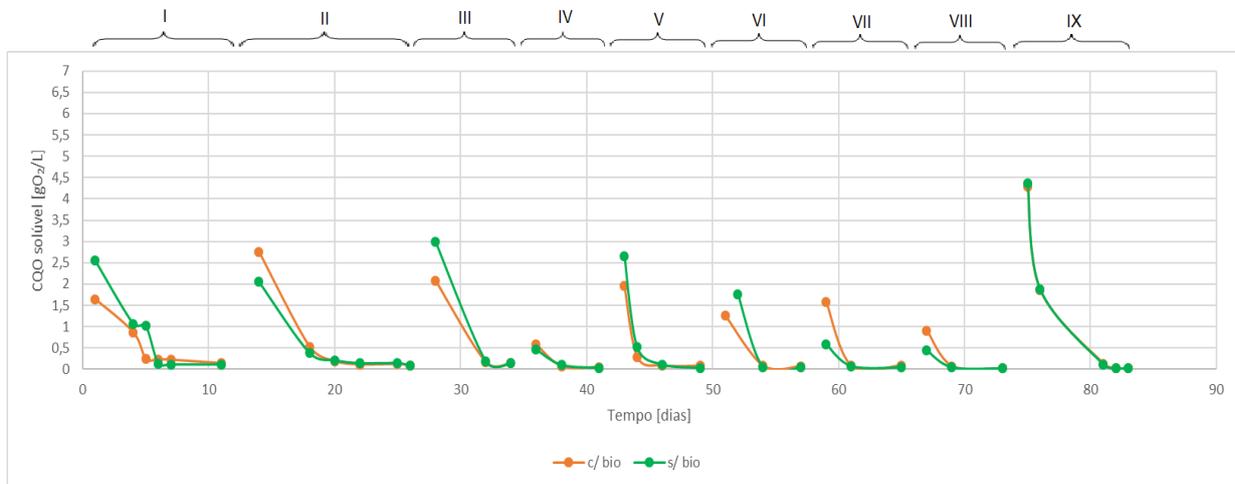


Figura 3.41- Perfil da evolução da CQO solúvel do efluente tratado ao longo dos ciclos.

Através da análise das Figuras 3.40 e 3.41, pode-se constatar que os perfis da CQO total e da CQO solúvel são semelhantes entre os reatores UASB, contudo, verifica-se que o efluente tratado do reator UASB que operou com *biochar* apresentou uma CQO total inferior ao efluente tratado do reator UASB sem *biochar* no dia seguinte à alimentação dos ciclos I, II, III, V, VI e IX. No que toca à CQO solúvel do efluente tratado, o reator UASB que operou com *biochar* apresentou valores inferiores ao reator UASB sem *biochar* no dia que precedeu a alimentação dos ensaios I, III, V, VI e IX.

No dia que precede a alimentação de cada ciclo é quando os valores de CQO total e solúvel atingem o seu pico, e nos dias seguintes os valores vão diminuindo gradualmente, como seria de esperar.

Por norma, no dia que precede a alimentação de cada ciclo, a diferença entre a CQO total e a CQO solúvel do efluente tratado é elevada, provavelmente devido ao *washout* de biomassa causado pela elevada quantidade de lípidos na alimentação, que em condições anaeróbias são hidrolisados em AGCL (Lalman and Bagley, 2001), que por sua vez afetam negativamente a granulação, na medida em que ocorre a sua adsorção aos grânulos, tornando-os mais leves, resultando na sua flutuação e conseqüente *washout* (Hwu, 1997). Nos dias seguintes, os valores de CQO solúvel são muito próximos dos valores de CQO total, sugerindo que a quantidade de biomassa no efluente tratado é pouca, provavelmente, porque a quantidade de gordura é menor, bem como a quantidade de AGCL que provocaria o *washout* de biomassa.

Pensa-se que a elevada CQO total do efluente tratado do reator UASB com *biochar* no dia que precedeu a alimentação do ciclo VIII face ao reator sem *biochar*, se deva a um episódio de inibição. Este episódio causou, principalmente, o *washout* de biomassa, visto que a CQO solúvel do efluente tratado no dia que precedeu a alimentação do ciclo VIII foi baixo, inclusivamente foi inferior ao valor do ciclo VII.

Durante o ciclo IV, em ambos os reatores, os valores de CQO total e solúvel do efluente tratado no dia que precedeu a alimentação, foram inferiores aos valores do efluente tratado do ciclo I, cuja alimentação apresentava a mesma carga orgânica que a alimentação do ciclo IV (4,00 gO<sub>2</sub>/L), para além de que no ciclo IV foi necessário menos tempo para atingir a mesma CQO de saída, sugerindo que ocorreu aclimatização e adaptação dos microrganismos ao substrato. Este sucedido também pode ser constatado entre outros ciclos. Por exemplo, entre o ciclo V e o ciclo VI, ou entre o ciclo V e o ciclo II, ou entre o ciclo V e o ciclo III, ou entre o ciclo VI e o ciclo II, ou entre o ciclo VI e o ciclo III (8,00 gO<sub>2</sub>/L).

No último ciclo (IX), verificou-se nos dois reatores que os valores de CQO total e solúvel no dia que precedeu a alimentação aumentaram muito face ao ciclo anterior VIII, demonstrando que os microrganismos tiveram dificuldade em suportar esta carga orgânica (14,00 gO<sub>2</sub>/L).

### 3.4.3. pH da alimentação e do efluente tratado

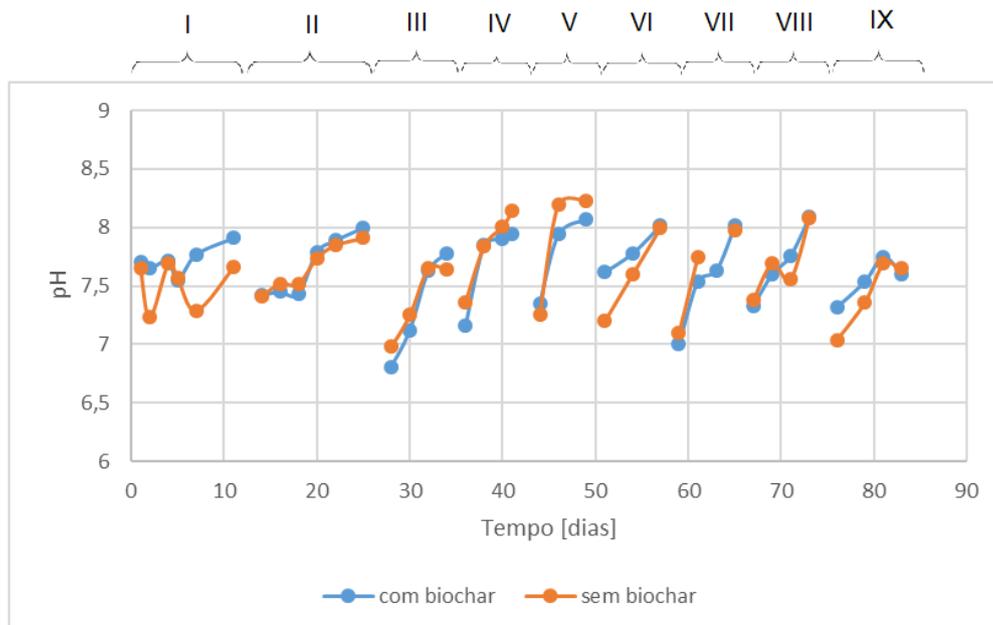
Os valores de pH da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB são apresentados na Tabela 3.6.

**Tabela 3.6-** pH da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB.

Ciclos	pH	
	Reator UASB com <i>biochar</i>	Reator UASB sem <i>biochar</i>
I	7,69	7,72
II	7,89	7,68
III	7,86	8,03
IV	7,91	7,89
V	7,60	7,60
VI	7,68	7,67
VII	7,68	7,68
VIII	7,65	7,68
IX	7,35	7,56

Os valores de pH das alimentações dos ciclos são próximos entre si, variando entre 7,35 e 7,91 para o reator UASB com *biochar* e entre 7,56 e 8,03 para o reator UASB sem *biochar*, como se pode constatar pela Tabela 3.6. Assim sendo, os valores de pH das alimentações dos dois reatores foram próximos da gama adequada para os microrganismos anaeróbios, que é entre 7,0 e 7,5, segundo (Schnürer and Jarvis, 2018).

A evolução do pH do efluente tratado dos ciclos realizados nos reatores UASB são apresentados na Figura 3.42.



**Figura 3.42-** Evolução do pH do efluente tratado dos reatores UASB.

A evolução do pH do efluente tratado foi semelhante entre os dois reatores, apresentando uma tendência de aumento ao longo do período de cada ciclo (Figura 3.42), possivelmente devido à amónia produzida durante a degradação das proteínas do soro de leite (Seadi *et al.*, 2008), no entanto, o aumento verificado não é significativo. Por norma, na fase inicial dos ciclos, os valores de pH encontram-se dentro da gama adequada para os microrganismos anaeróbios, que é entre 7,0 e 7,5, segundo (Schnürer and Jarvis, 2018), e posteriormente, o pH aumenta gradualmente até ultrapassar ligeiramente o valor superior da gama, podendo atingir valores de pH superiores a 8, como se constatou em alguns ciclos.

### 3.4.4. Condutividade da alimentação e do efluente tratado

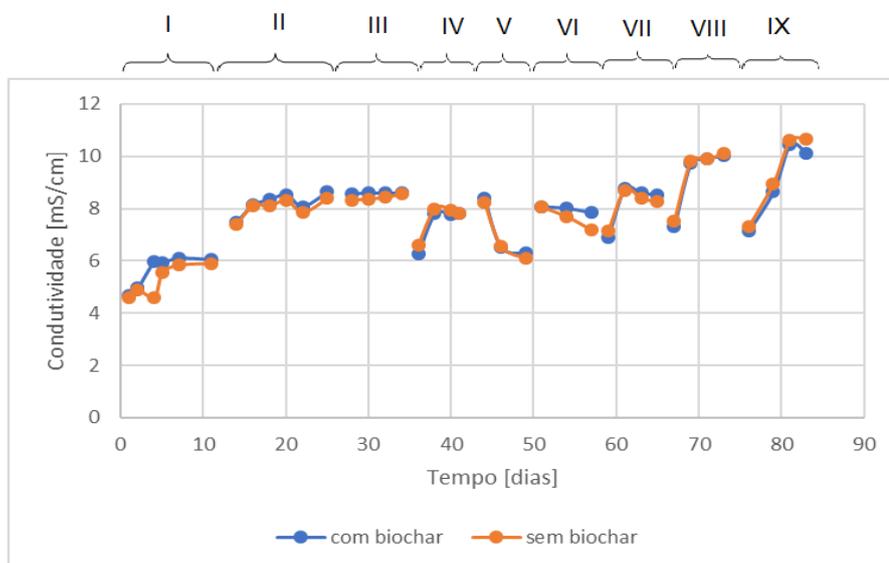
Na Tabela 3.7 estão apresentados os valores de condutividade da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB.

**Tabela 3.7-** Condutividade da alimentação dos ciclos realizados nos reatores UASB.

Ciclo	Condutividade [mS/cm]	
	Reator UASB com <i>biochar</i>	Reator UASB sem <i>biochar</i>
I	4,59	4,32
II	6,89	7,14
III	7,03	7,16
IV	5,94	6,00
V	7,13	7,13
VI	5,48	5,48
VII	8,16	8,09
VIII	9,36	9,45
IX	10,12	9,98

Da análise da Tabela 3.7, e da CQO total e solúvel da alimentação dos reatores UASB, representada na Tabela 3.5, pode-se verificar que quanto maior é a CQO da alimentação maior é a condutividade. Os valores de condutividade das alimentações eram inferiores à gama (15,9 a 22,0 mS/cm), que segundo (Mohee and Mudhoo, 2012) pode provocar uma redução de 50% da atividade dos microrganismos.

O perfil da condutividade do efluente tratado dos reatores UASB está representado no gráfico da Figura 3.43.



**Figura 3.43-** Perfil da evolução da condutividade do efluente tratado dos reatores UASB.

Através da Figura 3.43 e da condutividade da alimentação dos ensaios, representada na Tabela 3.7, é observável que a condutividade do efluente tratado aumenta com a condutividade da alimentação. No geral, verifica-se um aumento dos valores da condutividade ao longo de cada ciclo, possivelmente devido à liberação de cátions durante a decomposição do substrato (Schnürer and Jarvis, 2018).

Os valores de condutividade do efluente tratado dos reatores eram inferiores à gama (15,9 a 22,0 mS/cm), que segundo (Mohee and Mudhoo, 2012) pode provocar uma redução de 50% da atividade dos microrganismos.

### 3.4.5. Sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) do efluente tratado

As concentrações de sólidos suspensos totais e de sólidos suspensos voláteis do efluente tratado ao longo dos ciclos realizados nos reatores UASB estão apresentadas nas Figuras 3.44 e 3.45, respetivamente.

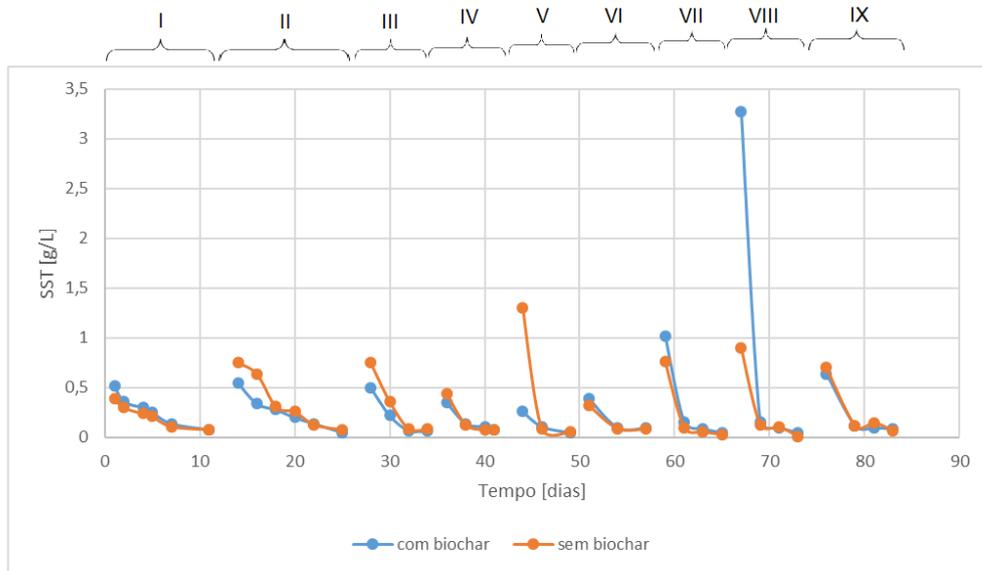


Figura 3.44- Perfil da evolução da concentração de SST do efluente tratado.

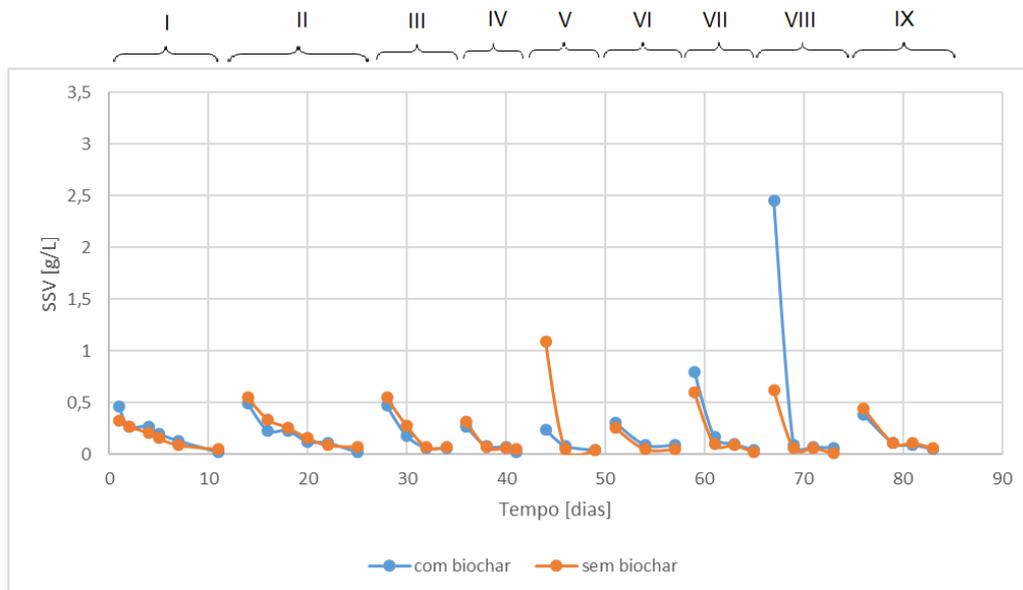


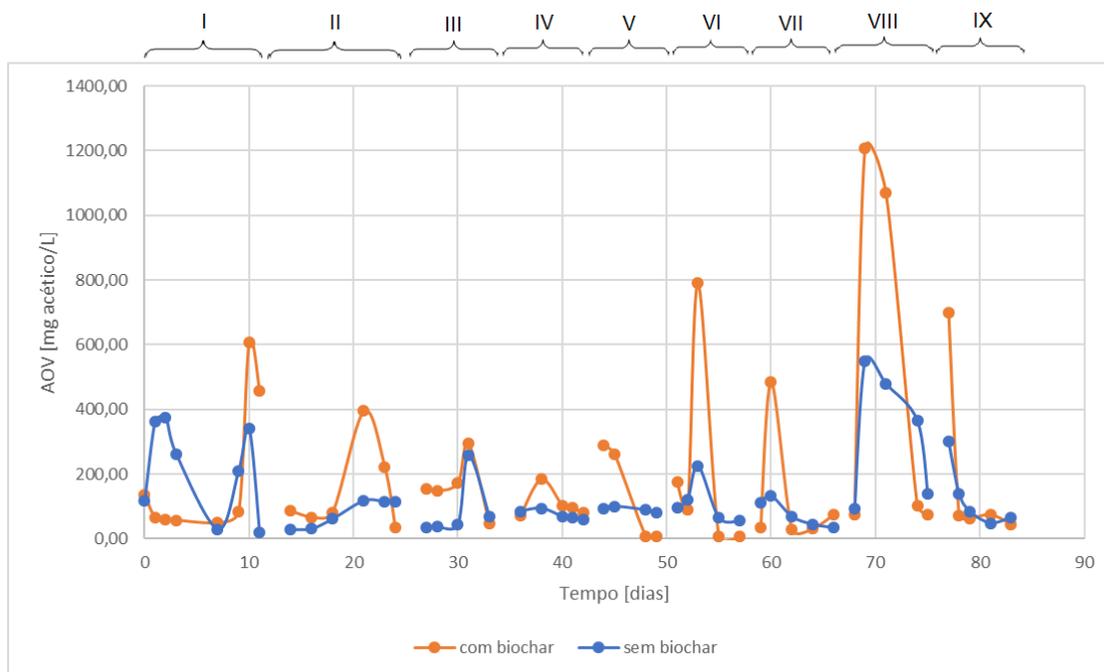
Figura 3.45- Perfil da evolução da concentração de SSV do efluente tratado.

Como se pode constatar através das Figuras 3.44 e 3.45, o pico de SST e SSV no efluente tratado de cada ciclo ocorre no dia que precede o dia da alimentação. Até ao final de cada ciclo, a concentração destes parâmetros vai diminuindo continuamente. Ambos os reatores apresentam uma elevada relação de SSV/SST em todos os ciclos, indicando que a maioria dos SST do efluente tratado se devem à presença de biomassa em suspensão. Este sucedido deve-se, provavelmente, ao *washout* de biomassa causado pela elevada quantidade de lípidos na composição do soro (Galbraith and Miller, 1973; Angelidaki and Ahring, 1992; Hwu, 1997), que são convertidos em AGCL (Lalman and Bagley, 2001), que por sua vez se adsorvem aos grânulos, tornando-os mais leves, e provocando o seu *washout* (Hwu, 1997). Considera-se que a diminuição da quantidade de sólidos no efluente tratado dos reatores ao longo de cada ciclo, se deva à diminuição da quantidade de lípidos no sistema e, conseqüentemente, a diminuição da quantidade de AGCL que provocaria o *washout* da biomassa.

Pode-se constatar que durante a maior parte dos ciclos II, III, IV e V, as concentrações de SST e SSV do efluente tratado do reator com *biochar* foram inferiores comparativamente ao reator sem *biochar*, possivelmente, resultado das características do *biochar* que promovem e facilitam a colonização de microrganismos (Luo *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2015; Lehmann and Joseph, 2016; Sunyoto *et al.*, 2016), reduzindo assim o *washout* de biomassa. Nos três ensaios subsequentes a tendência inverte-se, visto que a concentração de SST e SSV do efluente do reator com *biochar* torna-se mais elevada do que no efluente tratado do reator sem *biochar*. Considera-se que este sucedido se deva a um fenómeno de inibição que afetou o reator com *biochar*, tendo atingido o apogeu no dia seguinte à alimentação do ensaio VIII, onde o reator com *biochar* atingiu o pico de 3,21 g SST/L e 2,45 g SSV/L. No último ciclo (IX), as concentrações de SST e SSV do efluente tratado do reator com *biochar* voltaram a serem inferiores do que no reator sem *biochar*.

### 3.4.6. Ácidos orgânicos voláteis (AOV) do efluente tratado

Na Figura 3.46 está apresentada a concentração de AOV na forma de ácido acético do efluente tratado dos ensaios realizados nos reatores UASB.



**Figura 3.46-** Perfil da evolução da concentração de AOV (mg acético/L) no efluente tratado dos reatores UASB.

Através da análise da Figura 3.46, pode-se constatar que a concentração de AOV no efluente tratado do reator com *biochar* variou entre 50 a 1200 mg acético/L e entre 50 a 550 mg acético/L no efluente tratado do reator sem *biochar*. Por norma, a concentração de AOV no efluente tratado de cada reator atingia o pico na fase inicial do ciclo, acabando por recuperar para as concentrações de AOV verificados antes da perturbação.

É evidente que o reator com *biochar* atingiu níveis de AOV muito mais elevados do que o reator sem *biochar* na fase inicial de cada ciclo, decrescendo nos dias seguintes até níveis próximos do reator sem *biochar*, sugerindo que o *biochar* promoveu a produção e a degradação de ácidos intermediários. Este resultado é semelhante aos de estudos anteriores, que mostram que a adição de *biochar* pode acelerar a produção e o consumo de AOV (Xu *et al.*, 2015; Lü *et al.*, 2016).

Durante os ciclos realizados, a concentração total de AOV foi inferior ao limiar de toxicidade (3 000 mg acético/L) (Malina and Pohland, 1997).

### 3.4.7. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

#### 3.4.7.1. Produção de metano

A evolução do volume cumulativo de metano gerado pelos reatores UASB ao longo de cada ciclo está apresentada na Figura 3.47.

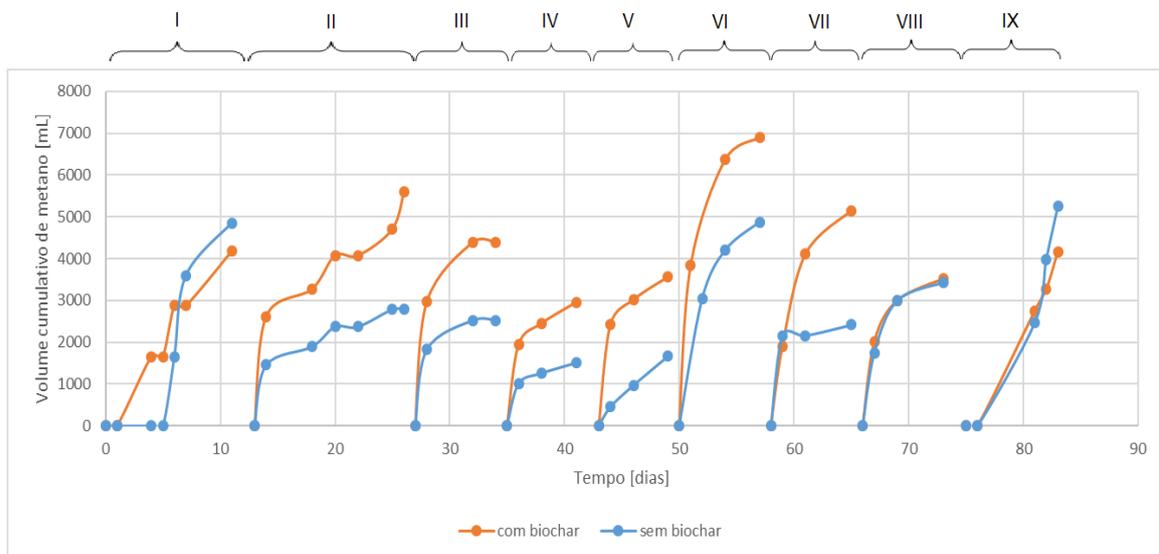


Figura 3.47- Perfil do volume cumulativo de metano gerado pelos reatores UASB.

O reator a operar com *biochar* produziu mais metano do que o reator sem *biochar* na maioria dos ciclos, conforme mostra a Figura 3.47. Comparativamente à réplica sem *biochar*, o reator com *biochar* aumentou a produção de metano em 100,68%, 73,92%, 96,02%, 114,44%, 41,24%, 113,35% e 2,62% nos ciclos II, III, IV, V, VI, VII e VIII, respetivamente.

O reator UASB com *biochar* produziu mais metano durante o sexto (VI) ciclo, com um volume total cumulativo de cerca de 6 900 mL, enquanto que o reator de controlo atingiu o pico durante o último ciclo (IX), com cerca de 5 250 mL.

Estes resultados vão ao encontro do que vários autores reportaram relativamente à contribuição do *biochar* para o aumento da produção de metano (Luo *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2015; Lü *et al.*, 2016; Sunyoto *et al.*, 2016).

### 3.4.7.2. Eficiência de remoção da CQO e eficiência de metanização

A evolução da eficiência de remoção da CQO ao longo dos ciclos realizados nos reatores UASB está apresentada na Figura 3.48.

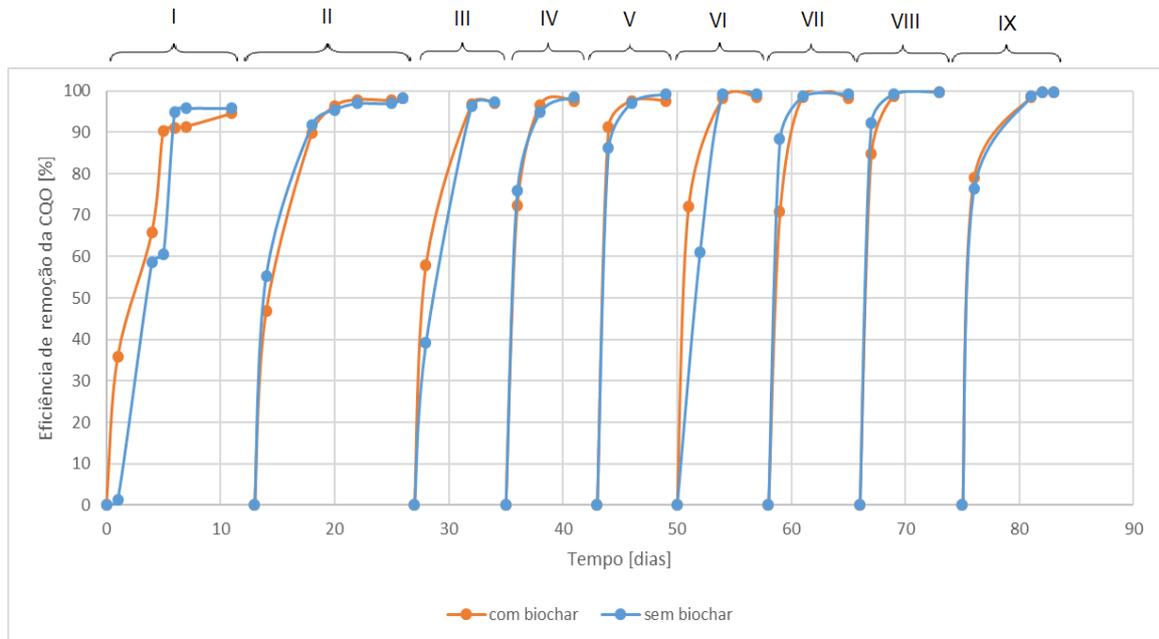
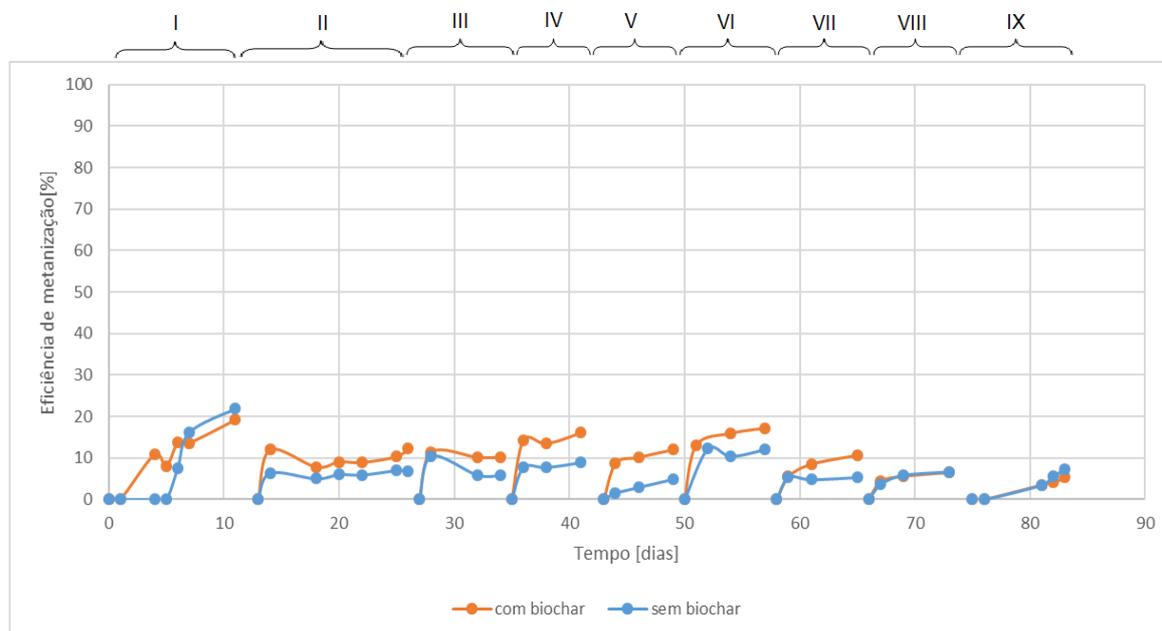


Figura 3.48- Perfil da evolução da eficiência de remoção da CQO dos ciclos em reatores UASB.

Da análise da Figura 3.48 pode-se constatar que os dois reatores apresentaram evoluções da eficiência de remoção semelhantes. Para além disso, é observável que a eficiência de remoção foi bastante elevada para os dois reatores. A eficiência de remoção mais baixa verificou-se no primeiro (I) ensaio, com 95,69% e 95,74% para o reator com *biochar* e para o reator sem *biochar*, respetivamente, e a mais alta durante o último ensaio (IX), com 99,77% e 99,75% para o reator com *biochar* e para o reator sem *biochar*, respetivamente.

Expectava-se uma elevada remoção da CQO, visto que os reatores operavam em modo descontínuo com recirculação, por isso, o líquido passava pelo interior do reator várias vezes.

Na Figura 3.49 são apresentados os valores de eficiência de metanização da CQO dos ciclos realizados nos reatores UASB.



**Figura 3.49-** Perfil da evolução da eficiência de metanização dos ciclos em reatores UASB.

Em termos da eficiência de metanização, os reatores apresentaram perfis de evolução semelhantes entre si, como se pode observar através da Figura 3.49. O reator com *biochar* apresentou valores de eficiência de metanização superiores ao reator sem *biochar* nos ciclos II, III, IV, V, VI e VII de 77,73%, 73,63%, 80,63%, 144,20%, 42,79% e 100,38%, respetivamente.

Os reatores atingiram a eficiência de metanização mais elevada durante o primeiro (I) ensaio. O reator com *biochar* apresentou uma eficiência de metanização de 19,18% e o reator de controlo apresentou uma eficiência de metanização de 21,79%.

Constata-se que os reatores atingiram eficiências de remoção da CQO superiores às eficiências de metanização em todos os reatores, o que demonstra que ocorreu a acumulação de matéria orgânica na biomassa dos reatores.



## **4. Conclusões**

### **4.1. 1ª fase – Sinergismos entre a carga orgânica, SSV e alcalinidade**

Durante a primeira fase do trabalho experimental foram operados 17 ensaios descontínuos durante cerca de 25 dias com o intuito de estudar os sinergismos entre a carga orgânica, o teor de SSV e a concentração de alcalinidade no desempenho do processo de digestão anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade e a contribuição para o processo de cada um destes parâmetros. Através dos resultados desta bateria de ensaios verificou-se que com o aumento da CQO aplicada, também aumenta a produção de metano e a remoção da CQO, até ao ponto ótimo (cerca de 8,00 gCQO/L), a partir do qual estes parâmetros estagnam. Relativamente ao fator metano/soro, diminui à medida que a CQO aplicada aumenta, sendo que o pico desta variável dependente é atingido para a CQO mais baixa da gama (2,00 gO<sub>2</sub>/L). Os dados também revelam que quanto maior a CQO aplicada, maior deve ser a alcalinidade adicionada para maximizar o volume de metano gerado e o fator metano/soro. A remoção da CQO é máxima para uma concentração de alcalinidade de cerca de 2,00 gKHCO<sub>3</sub>/L, contudo, verifica-se que para um dado valor de CQO aplicado, os valores de remoção da CQO são próximos para diferentes valores de alcalinidade, o que demonstra que a alcalinidade é pouco influente na remoção da CQO. Os resultados revelaram que a concentração de SSV é importante para o volume de metano gerado e para o fator metano/soro e praticamente irrelevante para a remoção da CQO, visto que para um dado valor de CQO aplicado, os valores de remoção da CQO são próximos entre os valores de SSV que compõem a gama. A concentração de SSV ótima para qualquer uma das variáveis dependentes é 10 g/L.

### **4.2. 2ª fase – Adaptabilidade da biomassa**

Na segunda fase do trabalho experimental, repetiram-se os 6 ensaios da primeira fase que demonstraram melhor desempenho. A repetição destes ensaios visava avaliar a adaptabilidade da biomassa. A operação destes reatores permitiu inferir que não ocorreu adaptação da biomassa, aliás os reatores apresentaram piores performances ao nível da produção de metano e eficiência de metanização comparativamente à 1ª fase.

### **4.3. 3ª fase – Influência do *biochar* e da sua granulometria**

Na terceira fase do trabalho experimental, foram realizados 4 ensaios descontínuos durante aproximadamente 40 dias, com o intuito de avaliar a influência do *biochar* e da sua granulometria na biodegradabilidade anaeróbia do soro de leite com elevada salinidade. Este estudo mostrou que a aplicação de *biochar* estimulou o crescimento celular, a produção de metano, a eficiência de metanização e a remoção da CQO. O reator com *biochar* de granulometria de 1,00 a 2,00 mm atingiu uma eficiência de remoção de CQO superior e gerou mais metano, enquanto que o reator a operar com *biochar* de granulometria <1,00 mm atingiu uma eficiência de metanização superior.

### **4.4. 4ª fase - Reatores UASB**

Com o intuito de estudar a viabilidade da digestão anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores UASB com e sem *biochar*, realizou-se uma sequência de 9 ciclos. O reator UASB com *biochar* revelou-se mais eficiente ao nível da produção de metano e ao nível da eficiência de metanização na maioria dos ciclos. No reator com *biochar* também se verificou uma maior produção e degradação de AOV, o que revela uma maior adaptação da biomassa ao substrato.

Ambos os reatores alcançaram eficiências de remoção da CQO elevadas (entre 95 e 99%, aproximadamente) e diminuíram a carga orgânica do efluente tratado para níveis aceitáveis (entre 0,04 e 0,20 gCQO/L, aproximadamente). É de assinalar que este facto por si só reveste da maior importância para o tratamento do soro de leite gerado pelas queijarias produtoras de Queijo Serra da Estrela, porque, desta forma, o efluente tratado reúne as condições para, pelo menos, ser enviado para uma ETAR sem afetar gravemente o seu regular e eficaz funcionamento.

## 5. Sugestões de trabalho futuro

No futuro poderá ser estudada a influência de *biochar* obtido a partir de outro tipo de biomassa e de outras granulometrias.

Analisar os nutrientes presentes na constituição do *biochar* e a sua biodisponibilidade.

Relativamente aos ensaios realizados em UASB sugere-se a realização de uma estratégia de operação direcionada para a repetição de ciclos com cargas orgânicas baixas (4,00 gO<sub>2</sub>/L, por exemplo), e durante mais tempo, com o intuito de promover a adaptação da biomassa e o aumento da eficiência de metanização. Para além disso, os reatores UASB podem ser operados em modo contínuo, visto que neste trabalho não foi possível dada a quantidade de soro de leite disponível.

Propõe-se o estudo das populações microbiológicas através do método Fluorescence In Situ Hybridization (FISH).



## 6. Referência bibliográficas

- Abdel-fattah, T. M. *et al.* (2015) 'Journal of Industrial and Engineering Chemistry Biochar from woody biomass for removing metal contaminants and carbon sequestration', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry, 22, pp. 103–109. doi: 10.1016/j.jiec.2014.06.030.
- Águas do Centro Litoral (2019) *ETAR Sul - SIMRIA*. Available at: [http://www.simria.pt/gca/popup\\_2.php?id=96](http://www.simria.pt/gca/popup_2.php?id=96) (Accessed: 19 July 2019).
- Alexiou, I. (1998) *A STUDY OF PRE-ACIDIFICATION REACTOR DESIGN FOR ANAEROBIC TREATMENT OF HIGH STRENGTH INDUSTRIAL WASTEWATERS*. UNIVERSITY OF NEWCASTLE UPON TYNE.
- Alves, M. M. (1998) *ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DE DIGESTORES ANAERÓBIOS DE LEITO FIXO*. UNIVERSIDADE DO MINHO.
- Angelidaki, I. and Ahring, B. K. (1992) 'Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion', *Applied Microbiology Biotechnology*, 37(September), pp. 808–812. doi: 10.1007/BF00174850.
- APHA (1998) 'Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, nineteenth ed. American Public.', *American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington DC, USA*. doi: 10.1002/9780470087800.
- Arne Alphenaar, P., Visser, A. and Lettinga, G. (1993) 'The effect of liquid upward velocity and hydraulic retention time on granulation in UASB reactors treating wastewater with a high sulphate content', *Bioresource Technology*, 43(3), pp. 249–258. doi: 10.1016/0960-8524(93)90038-D.
- Ayar, A., Sert, D. and Akin, N. (2009) 'The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia - Turkey', *Environmental Monitoring and Assessment*, 152(1–4), pp. 1–12. doi: 10.1007/s10661-008-0291-9.
- Azbar, N., Ursillo, P. and Speece, R. E. (2001) 'EFFECT OF PROCESS CONFIGURATION AND SUBSTRATE COMPLEXITY ON THE PERFORMANCE OF ANAEROBIC PROCESSES', 35(3), pp. 817–829.
- Baldasso, C., Barros, T. C. and Tessaro, I. C. (2011) 'Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration', *Desalination*, 278(1–3), pp. 381–386. doi: 10.1016/j.desal.2011.05.055.
- Barbosa, M. L. S. (2009) *ESTUDO DA BIOMASSA DE REACTORES UASB TRATANDO EFLUENTES DE LACTICÍNIOS*. Universidade de Aveiro.
- Barredo, M. S. and Evison, L. M. (1991) 'Effect of propionate toxicity on

- methanogen-enriched sludge, *Methanobrevibacter smithii*, and *Methanospirillum hungatii* at different pH values', *Applied and Environmental Microbiology*, 57(6), pp. 1764–1769.
- Batstone, D. J. *et al.* (2002) 'The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1)', *Water Science and Technology*, 45(10), pp. 65–73. doi: 10.2166/wst.2002.0292.
- Bennett, R. J. and Johnston, K. A. (2004) *General Aspects of Cheese Technology, Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. doi: 10.1016/S1874-558X(04)80038-1.
- Bosco, F. and Chiampo, F. (2010) 'Production of polyhydroxyalcanoates ( PHAs ) using milk whey and dairy wastewater activated sludge Production of bioplastics using dairy residues', *JBIOOSC*. The Society for Biotechnology, Japan, 109(4), pp. 418–421. doi: 10.1016/j.jbiosc.2009.10.012.
- Boshir, M. *et al.* (2016) 'Progress in the preparation and application of modified biochar for improved contaminant removal from water and wastewater', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 214, pp. 836–851. doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.057.
- Braun, R. (2007) *Improvement of crop plants for industrial end uses, Anaerobic digestion – A multi-faceted process for energy, environmental management and rural development. In P. Ranalli (Herausg.) (Ed.), Improvement of crop plants for industrial end users*. doi: 10.1007/978-1-4020-5486-0.
- Bruus, J. H., Nielsen, P. H. and Keiding, K. (1992) 'On the stability of activated sludge flocs with implications to dewatering', *Water Research*, 26(12), pp. 1597–1604. doi: 10.1016/0043-1354(92)90159-2.
- Chatzipaschali, A. A. and Stamatis, A. G. (2012) 'Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects', *Energies* 2012, 5, 3492-3525; doi:10.3390/en5093492, pp. 3492–3525. doi: 10.3390/en5093492.
- Chen, G. Q. *et al.* (2018) 'A review of salty waste stream management in the Australian dairy industry', *Journal of Environmental Management*. Elsevier, 224(May), pp. 406–413. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.07.056.
- Chen, Y., Cheng, J. J. and Creamer, K. S. (2008) 'Inhibition of anaerobic digestion process: A review', *Bioresource Technology*, 99(10), pp. 4044–4064. doi: 10.1016/j.biortech.2007.01.057.
- Cimino, G. and Caristi, C. (1990) 'Acute toxicity of heavy metals to aerobic digestion of waste cheese whey', *Biological Wastes*, 33(3), pp. 201–210. doi: 10.1016/0269-7483(90)90005-D.
- Coelho, N. M. *et al.* (2006) 'Effect of Non-Feeding Period Length on the Intermittent Operation of UASB Reactors Treating Dairy Effluents', *Biotechnology and*

*Bioengineering*, 96(2), pp. 244–249. doi: 10.1002/bit.

- Danalewich, J. R. *et al.* (1998) 'CHARACTERIZATION OF DAIRY WASTE STREAMS, CURRENT TREATMENT PRACTICES, AND POTENTIAL FOR BIOLOGICAL NUTRIENT REMOVAL', 32(12). doi: 10.1016/S0043-1354(98)00160-2.
- Demirel, B. and Scherer, P. (2008) 'The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review', *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 7(2), pp. 173–190. doi: 10.1007/s11157-008-9131-1.
- Demirel, B., Yenigun, O. and Onay, T. T. (2005) 'Anaerobic treatment of dairy wastewaters: A review', *Process Biochemistry*, 40(8), pp. 2583–2595. doi: 10.1016/j.procbio.2004.12.015.
- Dgadr, D.-G. D. A. E. D. R. (2009) 'Queijo Serra da Estrela Denominação de Origem Protegida - Caderno de especificações'.
- Diamantis, V. I. *et al.* (2014) 'Two-stage CSTR-UASB digestion enables superior and alkali addition-free cheese whey treatment', *Biochemical Engineering Journal*. Elsevier B.V., 84, pp. 45–52. doi: 10.1016/j.bej.2014.01.001.
- Eastman, J. A. and Ferguson, J. F. (1981) 'Solubilization of Particulate Organic Carbon during the Acid Phase of Anaerobic Digestion', *Journal of Water Pollution Control Federation*, 53(3), pp. 352–366.
- Erguder, T. H. *et al.* (2001) 'Anaerobic Biotransformation and Methane Generation Potential of Cheese Whey in Batch and UASB Reactors', *Waste Management*, 21, pp. 643–650.
- Fagbohunbe, M. O. *et al.* (2017) 'The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 61, pp. 236–249. doi: 10.1016/j.wasman.2016.11.028.
- FAO (1978) 'Codex General Standard for Cheese', *Practice*, pp. 1–6.
- FAOSTAT (2014) *FAOSTAT Domains - Statistical Database*.
- Fox, P. F. *et al.* (2017) *Fundamentals of Cheese Science*. Available at: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-4899-7681-9.pdf>.
- Gai, X. *et al.* (2014) 'Effects of Feedstock and Pyrolysis Temperature on Biochar Adsorption of Ammonium and Nitrate', (3), pp. 1–19. doi: 10.1371/journal.pone.0113888.
- Galbraith, H. and Miller, T. B. (1973) 'Physicochemical Effects of Long Chain Fatty Acids on Bacterial Cells and their Protoplasts', pp. 647–658.
- García, H. *et al.* (2008) 'Flocculants effect in biomass retention in a UASB reactor



- Hartmann, H. and Ahring, B. K. (2005) 'The Future of Biogas Production', *Energy*, pp. 1–10.
- Hickey, R. F. *et al.* (1991) 'START-UP, OPERATION, MONITORING AND CONTROL OF HIGH-RATE ANAEROBIC TREATMENT SYSTEMS', *Biochemical Engineering Journal*, 20(2–3), p. 97. doi: 10.1016/j.bej.2003.11.001.
- Hori, T. *et al.* (2006) 'Dynamic transition of a methanogenic population in response to the concentration of volatile fatty acids in a thermophilic anaerobic digester', *Applied and Environmental Microbiology*, 72(2), pp. 1623–1630. doi: 10.1128/AEM.72.2.1623-1630.2006.
- Hwang, S. H. and Hansen, C. L. (1992) 'Biokinetics of an Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor Treating Whey Permeate', *Bioresource Technology* 41 (1992) 223-230, 41, pp. 223–230.
- Hwu, C. (1997) *Enhancing Anaerobic Treatment of Wastewaters Containing Oleic Acid*.
- IBI (International Biochar Initiative) (2015) 'Standardized Product Definition and Product Testing Guidelines for Biochar That Is Used in Soil', (November), pp. 1–61.
- INE, I. N. de E. (2017) *Estatísticas Agrícolas 2017*.
- INE, I. N. de E. (2018a) *Consumo humano de leite e produtos lácteos (t) por tipo de leites e produtos lácteos*, INE. Available at: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorCod=0000213&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorCod=0000213&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt) (Accessed: 3 March 2019).
- INE, I. N. de E. (2018b) *Produção de queijo (t) por tipo de queijo*. Available at: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorCod=0000920&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorCod=0000920&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt) (Accessed: 5 March 2019).
- INETI (2001) 'Guia técnico indústria dos laticínios'.
- Ismail, S. B. (2013) *ANAEROBIC WASTEWATER TREATMENT OF HIGH SALINITY WASTEWATERS: IMPACT ON BIOACTIVITY AND BIOMASS RETENTION*. Wageningen University, Wageningen, NL.
- Jacinto, P. J. C., Carvalho, A. F. de and Furtado, M. M. (2009) 'Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à saga', *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 64(367/368), pp. 19–25.
- Jian, C. and Shi-yi, L. (1993) 'Study on Mechanism of Anaerobic Sludge Granulation in UASB Reactors', *Water Science and Technology*, 28(7), pp. 171–178. doi: 10.2166/wst.1993.0159.



10.1016/j.watres.2004.12.038.

- Lefebvre, O. *et al.* (2007) 'Impact of increasing NaCl concentrations on the performance and community composition of two anaerobic reactors', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(1), pp. 61–69. doi: 10.1007/s00253-006-0799-2.
- Lehmann, J. and Joseph, S. (2016) 'Biochar for Environmental Management: Science and Technology', 1, pp. 1–12. Available at: <http://www.state.gov/r/pa/prs/ps/2016/11/264375.htm>.
- Lettinga, G. *et al.* (1980) 'Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment', *Biotechnology and bioengineering*, 22, pp. 699–734.
- Lettinga, G. *et al.* (1984) 'High-rate anaerobic waste-water treatment using the UASB reactor under a wide range of temperature conditions', *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2(1), p. 253. doi: 10.1080/02648725.1984.10647801.
- Lettinga, G. *et al.* (1993) 'Anaerobic Treatment of Domestic Sewage and W Astew Ater', 27(9), pp. 67–73.
- Lettinga, G. (1995) 'Anaerobic digestion and wastewater treatment systems', *Antonie van Leeuwenhoek*, 67(1964), pp. 3–28.
- Lettinga, G. (1996) 'Sustainable integrated biological wastewater treatment', *Water Science and Technology*. International Association on Water Quality, 33(3), pp. 85–98. doi: 10.1016/0273-1223(96)00303-4.
- Lettinga, G. and Hulshoff Pol, L. W. (1991) 'USAB-process design for various types of wastewaters', *Water Science and Technology*, 24(8), pp. 87–107.
- van Lier, J. B., Mahmoud, N. and Zeeman, G. (2008) *Biological wastewater treatment: principles, modeling and design - Chapter 16: Anaerobic wastewater treatment, Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. doi: 10.1021/es00154a002.
- Lim, J. W. and Wang, J. Y. (2013) 'Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste', *Waste Management*, 33(4), pp. 813–819. doi: 10.1016/j.wasman.2012.11.013.
- Liu, Y. *et al.* (2010) 'Applying an electric field in a built-in zero valent iron - Anaerobic reactor for enhancement of sludge granulation', *Water Research*. Elsevier Ltd, 45(3), pp. 1258–1266. doi: 10.1016/j.watres.2010.10.002.
- Lü, F. *et al.* (2016) 'Biochar alleviates combined stress of ammonium and acids by firstly enriching Methanosaeta and then Methanosarcina', *Water Research*. Elsevier Ltd, 90, pp. 34–43. doi: 10.1016/j.watres.2015.12.029.

- Lua, A. C. and Guo, J. (2000) 'Activated carbon prepared from oil palm stone by one-step CO<sub>2</sub> activation for gaseous pollutant removal', *Carbon*, 38(7), pp. 1089–1097. doi: 10.1016/S0008-6223(99)00231-6.
- Lundén, A. (2003) 'Biogas Production process water from a wastewater treatment', *Science*.
- Luo, C. *et al.* (2014) 'Application of eco-compatible biochar in anaerobic digestion to relieve acid stress and promote the selective colonization of functional microbes', *Water Research*. Elsevier Ltd, 68, pp. 710–718. doi: 10.1016/j.watres.2014.10.052.
- Malaspina, F. *et al.* (1995) 'Cheese whey and cheese factory wastewater treatment with a biological anaerobic–aerobic process', *Water Science and Technology*, 32(12), pp. 59–72. doi: 10.1016/0273-1223(96)00139-4.
- Malina, J. and Pohland, F. (1997) *Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes.*, Journal of Environmental Management. Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Pennsylvania, USA. doi: 10.1006/jema.1995.0131.
- Martins, R. C. *et al.* (2010) 'Fenton's Process for Post-Biologically Treated Cheese Production Wastewaters Final Remediation. Toxicity Assessment', 8.
- Mendes, C. and Mendonça, P. (2013) 'Problemática das águas residuais de queijarias nos concelhos de Seia e Oliveira do Hospital'.
- Mohee, R. and Mudhoo, A. (2012) *Bioremediation and Sustainability: Research and Applications*. John Willy & Sons.
- Moreira, A. M. (2012) *Estudo de Tratabilidade de um Efluente Típico da Indústria de Lactícínios, por Digestão Anaeróbia*. Instituto Politécnico de Coimbra.
- Morvai, L. *et al.* (1990) 'The influence of organic load on granular sludge development in an acetate-fed system', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 33(4), pp. 463–468. doi: 10.1007/BF00176667.
- Mosey, F. E. and Fernandez, X. . (2013) 'Mathematical modelling of methanogenesis in sewage sludge digestion.', *Progress in Energy and Combustion Science*. Elsevier Ltd, 39(4), pp. 383–402. doi: 10.1016/j.pecs.2013.03.003.
- Mumme, J. *et al.* (2014) 'Use of biochars in anaerobic digestion', *BIORESOURCETECHNOLOGY*. Elsevier Ltd, 164, pp. 189–197. doi: 10.1016/j.biortech.2014.05.008.
- Ndon, U. J. and Dague, R. R. (1997) 'Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic sequencing batch reactor treatment of low-strength wastewater', *Water Research*, 31(10), pp. 2455–2466. doi: 10.1016/S0043-1354(97)00105-X.

- Nielsen (2018) *Lares Portugueses gastaram, em média, mais 3,7% face ao ano anterior*. Available at: <https://www.nielsen.com/pt/pt/insights/news/2018/portuguese-households-spent-an-average-of-3-point-7-percentage-more-than-the-previous-year.html> (Accessed: 2 March 2019).
- Ozturk, I. *et al.* (1993) 'Hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor (HUASBR) treatment of dairy effluents', *Water Science and Technology*, 28(2), pp. 77–85.
- Panesar, P. S. *et al.* (2007) 'Bioutilisation of whey for lactic acid production', *Food Chemistry*, 105(1), pp. 1–14. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.03.035.
- Prazeres, A. R., Carvalho, F. and Rivas, J. (2012) 'Cheese whey management: A review', *Journal of Environmental Management*. Elsevier Ltd, 110, pp. 48–68. doi: 10.1016/j.jenvman.2012.05.018.
- Rajagopal, R. *et al.* (2013) 'Sustainable agro-food industrial wastewater treatment using high rate anaerobic process', *Water (Switzerland)*, 5(1), pp. 292–311. doi: 10.3390/w5010292.
- Rajeshwari, K. V *et al.* (2000) 'State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment', 4. doi: 10.1016/S1364-0321(99)00014-3.
- Rico, C. *et al.* (2015) 'High-load anaerobic co-digestion of cheese whey and liquid fraction of dairy manure in a one-stage UASB process: Limits in co-substrates ratio and organic loading rate', *Chemical Engineering Journal*. Elsevier B.V., 262, pp. 794–802. doi: 10.1016/j.cej.2014.10.050.
- Rinzema, A., van Lier, J. and Lettinga, G. (1988) 'Sodium inhibition of acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor', *Enzyme and Microbial Technology*, 10(1), pp. 24–32. doi: 10.1016/0141-0229(88)90094-4.
- Rodrigues, M. . and lemma, A. F. (2014) *Planejamento de experimentos*. 3ª edição. Edited by C. Editora.
- Sayed, S. K. Y. (1987) 'Anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater using the UASB process', p. 135.
- Schmidt, J. E. and Ahring, B. K. (1993) 'Effects of magnesium on thermophilic acetate-degrading granules in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors', *Enzyme and Microbial Technology*, 15(4), pp. 304–310. doi: 10.1016/0141-0229(93)90155-U.
- Schmidt, J. E. and Ahring, B. K. (1996) 'Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors', *Biotechnology and Bioengineering*, 49(3), pp. 229–246. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(19960205)49:3<229::AID-BIT1>3.0.CO;2-M.

- Schnürer, A., Bohn, I. and Moestedt, J. (2016) 'Protocol for Start-Up and Operation of CSTR Biogas Processes', (June), pp. 171–200. doi: 10.1007/8623.
- Schnürer, A. and Jarvis, Å. (2018) *Microbiology of the Biogas process*.
- Seadi, T. Al *et al.* (2008) *biogas HANDBOOK*.
- Seghezzi, L. *et al.* (1998) 'A REVIEW : THE ANAEROBIC TREATMENT OF SEWAGE IN UASB AND EGSB REACTORS', 65, pp. 175–190.
- Shaheen, S. M. *et al.* (2018) 'Wood-based biochar for the removal of potentially toxic elements in water and wastewater : a critical review', *International Materials Reviews*. Taylor & Francis, 0(0), pp. 1–32. doi: 10.1080/09506608.2018.1473096.
- Sharma, A. and Pathak, A. (2018) 'Dairy Industry and Sewage Wastewater', 4(3), pp. 12–15.
- Shete, B. S. and Shinkar, N. P. (2013) 'Dairy Industry Wastewater Sources, Characteristics & its Effects on Environment', *International Journal of Current Engineering and Technology ISSN 2277 - 4106*, 3(5), pp. 1611–1615. doi: 10.1075/target.18.2.05shi.
- Siebel, M. (2013) *Modeling the UASB reactor, Series on anaerobic wastewater treatment*. Agricultural University of Wageningen, Wageningen, The Netherlands. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Silva, F. G. C. S. (2013) *BIOVALORIZAÇÃO DE SORO DE QUEIJO POR PROCESSOS ANAERÓBIOS/AERÓBIOS*. Universidade de Aveiro.
- Siso, M. I. G. (1996) 'THE BIOTECHNOLOGICAL UTILIZATION OF CHEESE WHEY: A REVIEW', *Bioresource Technology*, 30(1), pp. 100–105. doi: 10.1590/s0101-20612010000100015.
- Solera, R., Romero, L. I. and Sales, D. (2002) 'The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up', *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 16(1), pp. 25–29.
- Sun, W. *et al.* (2018) 'Impacts of biochar on the environmental risk of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements during anaerobic digestion of cattle farm wastewater', *Bioresource Technology*. Elsevier, 256(February), pp. 342–349. doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.052.
- Sunyoto, N. M. S. *et al.* (2016) 'Effect of biochar addition on hydrogen and methane production in two-phase anaerobic digestion of aqueous carbohydrates food waste', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 219, pp. 29–36. doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.089.
- Tan, X. *et al.* (2015) 'Application of biochar for the removal of pollutants from

- aqueous solutions', *Chemosphere*. Elsevier Ltd, 125, pp. 70–85. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.12.058.
- Treu, L. *et al.* (2018) 'Microbial profiling during anaerobic digestion of cheese whey in reactors operated at different conditions', *Bioresource Technology*. Elsevier, 275(October 2018), pp. 375–385. doi: 10.1016/j.biortech.2018.12.084.
- Vavilin, V. A. *et al.* (2008) 'Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview', *Waste Management*, 28(6), pp. 939–951. doi: 10.1016/j.wasman.2007.03.028.
- Venetsaneas, N. *et al.* (2009) 'Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 100(15), pp. 3713–3717. doi: 10.1016/j.biortech.2009.01.025.
- Vidal, G. *et al.* (2000) 'Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy waste', *Bioresource Technology* 74 (2000) 231±239, 8524(September). doi: 10.1016/S0960-8524(00)00015-8.
- Wang, J. and Wang, S. (2019) 'Preparation, modification and environmental application of biochar: A review', *Journal of Cleaner Production*. Elsevier Ltd, 227, pp. 1002–1022. doi: 10.1016/j.jclepro.2019.04.282.
- Ward, A. J. *et al.* (2008) 'Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources', *Bioresource Technology*, 99(17), pp. 7928–7940. doi: 10.1016/j.biortech.2008.02.044.
- Werner, J. J. *et al.* (2011) 'Bacterial community structures are unique and resilient in full-scale bioenergy systems', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(10), pp. 4158–4163. doi: 10.1073/pnas.1015676108.
- De Wit, J. N. (2001) 'Lecturer's Handbook on whey and whey products', *European Whey Products Association*, p. 91. Available at: [https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as\\_sdt=0,5&q=Lecturers+Handbook+on+whey+and+whey+products](https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0,5&q=Lecturers+Handbook+on+whey+and+whey+products).
- Xu, S. *et al.* (2015) 'Comparing activated carbon of different particle sizes on enhancing methane generation in upflow anaerobic digester', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 196(December 2017), pp. 606–612. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.018.
- Yan, J. Q., Lo, K. V. and Pinder, K. L. (1993) 'Instability caused by high strength of cheese whey in a UASB reactor', *Biotechnology and Bioengineering*, 41(7), pp. 700–706. doi: 10.1002/bit.260410704.
- Yang, J. and Speece, R. E. (1986) 'The effects of chloroform toxicity on methane fermentation', *Water Research*, 20(10), pp. 1273–1279. doi: 10.1016/0043-1354(86)90158-2.

- Yao, H. *et al.* (2013) 'Adsorption of Fluoroquinolone Antibiotics by Wastewater Sludge Biochar : Role of the Sludge Source'. doi: 10.1007/s11270-012-1370-7.
- Yu, H. Q., Fang, H. H. P. and Tay, J. H. (2001) 'Effects of Fe<sup>2+</sup> on sludge granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactors', *Water Science and Technology*, 14(12), pp. 199–205. doi: 10.1061/(ASCE)0733-9372(2004)130:7(743).
- Yu, H. Q., Fang, H. H. P. and Tay, J. H. (2001) 'Enhanced sludge granulation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors by aluminum chloride', *Chemosphere*, 44(1), pp. 31–36. doi: 10.1016/S0045-6535(00)00381-7.
- Yu, H. Q., Tay, J. H. and Fang, H. H. . (2001) 'THE ROLES OF CALCIUM IN SLUDGE GRANULATION DURING UASB REACTOR START-UP', 35(4), pp. 1052–1060.
- Zheng, H. *et al.* (2013) 'Sorption of antibiotic sulfamethoxazole varies with biochars produced at different temperatures', *Environmental Pollution*. Elsevier Ltd, 181, pp. 60–67. doi: 10.1016/j.envpol.2013.05.056.
- Zupančič, G. D. and Grilc, V. (2012) 'Anaerobic Treatment and Biogas Production from Organic Waste', *Management of Organic Waste*, 2. doi: 10.5772/32756.

## 7. Anexos

### 7.1. Características dos reatores UASB

Tabela 7.1- Características dos reatores UASB.

Material	Acrílico
Altura [cm]	85,00
Diâmetro [cm]	9,50
Volume útil [L]	6,00
Área do leito [cm <sup>2</sup> ]	69,40

### 7.2. Calibração das bombas peristálticas

Com o intuito de operar com o caudal desejado foi necessário proceder à calibração das bombas peristálticas. Foram aplicadas diferentes potências a cada bomba e estimou-se o caudal para as respetivas potências. O caudal foi determinado através da Equação 7-1.

$$Q \left[ \frac{L}{h} \right] = \frac{\text{Volume medido [L]}}{\text{Tempo [h]}} \quad (\text{Equação 7-1})$$

Assumindo que o eixo das coordenadas corresponde ao caudal e o eixo das abcissas corresponde à potência aplicada, efetuou-se a linearização destes parâmetros, obtendo-se as retas de calibração representadas na Figura 7.1.

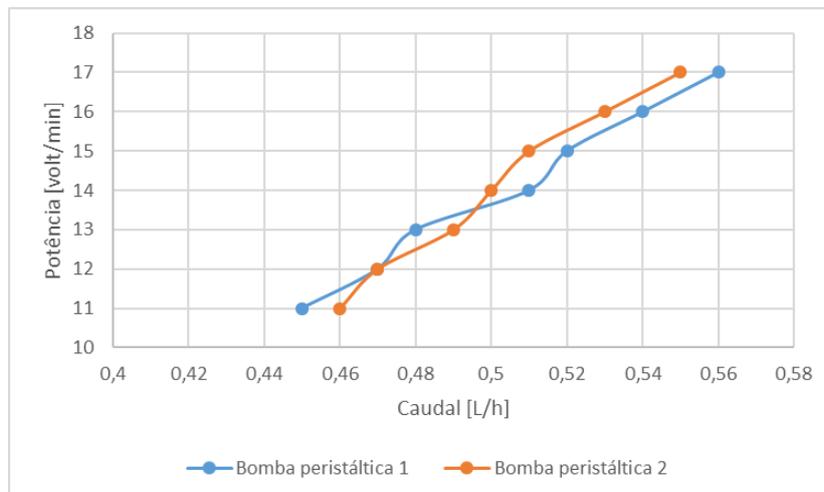


Figura 7.1- Retas de calibração das bombas peristáltica.

A equação das retas de calibração representadas na Figura 7.1 são:

Bomba peristáltica 1: Potência [volt/min] = 54,421\*Caudal [L/h] – 13,444;  $r^2=0,991$

Bomba peristáltica 2: Potência [volt/min] = 67,371\*Caudal [L/h] – 19,782;  $r^2=0,987$

### **7.3. Preparação da solução de alcalinidade**

- Pesagem de 200 g de  $\text{KHCO}_3$ ;
- Dissolução em 1500 mL de água destilada;
- Agitação durante 24 horas;
- Aferição do volume a 2 000 mL.

### **7.4. Preparação das soluções de macro e micronutrientes**

Preparação da solução de macronutrientes (adaptado de van Lier et al., 1997):

- Pesagem de 331,5485 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ;
- Pesagem de 72,3083 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;
- Pesagem de 15,5809 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 17,5759 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;
- Dissolução dos reagentes em 1 500 mL de água destilada;
- Aferição do volume a 2 000 mL.

Preparação da solução de micronutrientes (adaptado de van Lier et al., 1997):

- Pesagem de 1,9506 g de  $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 1,9498 g de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 0,4863 g de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 0,0295 g de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 0,0480 g de  $\text{ZnCl}_2$ ;
- Pesagem de 0,0514 g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ;
- Pesagem de 0,6181 g de  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;

- Pesagem de 0,0966 g de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 0,0486 g de  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;
- Pesagem de 0,9760 g de EDTA;
- Dissolução dos reagentes em 1 500 mL de água destilada;
- Agitação durante 24 horas;
- Aferição do volume a 2 000 mL.

## 7.5. Preparação das soluções para a análise da CQO

Preparação da solução oxidante:

- Pesagem de 20,432 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  previamente seco a 105 °C até peso constante e de 66,6 g de  $\text{HgSO}_4$ ;
- Dissolução dos reagentes em 1 000 mL de água destilada e 167 mL de ácido sulfúrico concentrado;
- Agitação durante 24 horas;
- Aferição do volume a 2 000 mL.

Preparação da solução ácida:

- Pesagem de 23,3 g de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ;
- Dissolução do reagente em 2 500 mL de ácido sulfúrico concentrado;
- Agitação durante 24 horas.

## 7.6. Tempos de retenção e retas de calibração associados a cada AOV

**Tabela 7.2-** Tempos de retenção e retas de calibração associados a cada AOV.

AOV	Tempo de retenção [min]	Reta de calibração
Acético	2,618	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 946,34
Propiónico	3,523	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 1 504,67
i-Butírico	4,468	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 1 789,66
n-Butírico	5,016	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 1 841,04
i-Valérico	6,136	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 2 071,81
n-Valérico	7,033	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 1 920,32
n-Capróico	9,120	Concentração [mg/L] = Área [ $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ ] / 1 744,48

## 7.7. Theoretical Oxygen Demand (TOD)

**Tabela 7.3-** TOD para cada AOV.

AOV	TOD [g CQO/g ácido]
Acético	1,067
Propiónico	1,514
i-Butírico	1,818
n-Butírico	1,818
i-Valérico	2,039
n-Valérico	2,039
n-Capróico	2,207

## 7.8. Carência química de oxigênio (CQO) total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental

**Tabela 7.4-** CQO total e de CQO solúvel dos reatores descontínuos da primeira fase do trabalho experimental no início e no final do período de incubação.

Referência do ensaio	Inicial		Final	
	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]
1	3,03	2,25	0,49	0,43
2	5,65	4,09	0,86	0,28
3	3,20	2,44	0,56	0,49
4	6,18	4,18	0,73	0,55
5	3,54	2,31	0,71	0,44
6	6,50	5,65	1,77	0,58
7	3,75	2,42	0,43	0,36
8	5,94	5,42	0,46	0,27
9	2,30	1,65	0,33	0,29
10	7,76	5,71	0,97	0,85
11	6,67	6,31	0,41	0,38
12	6,31	5,35	1,09	0,40
13	6,38	4,89	0,22	0,21
14	5,75	4,87	0,85	0,35
15	5,65	5,61	0,47	0,40
16	5,86	4,58	0,39	0,31
17	5,85	4,30	0,15	0,12

## 7.9. Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase

Tabela 7.5- Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 1ª fase.

Referência do ensaio	Eficiência de remoção [%]	
	CQO <sub>total</sub>	CQO <sub>solúvel</sub>
1	83,82	81,05
2	84,70	93,15
3	82,58	79,92
4	88,21	86,85
5	79,91	80,80
6	72,78	89,80
7	88,59	85,10
8	92,19	94,98
9	85,84	82,57
10	87,50	85,11
11	93,81	93,93
12	82,77	92,53
13	96,63	95,76
14	85,22	92,81
15	91,69	92,87
16	93,43	93,24
17	97,39	97,21

## 7.10. CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos

**Tabela 7.6-** CQO total e solúvel no início e no final do período de incubação dos reatores descontínuos da 2ª fase e dos ensaios da 1ª fase que foram repetidos.

Referência do ensaio	Inicial		Final	
	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>total</sub> [gO <sub>2</sub> /L]	CQO <sub>solúvel</sub> [gO <sub>2</sub> /L]
4 1ª fase	6,18	4,18	0,73	0,55
4 2ª fase	6,86	5,80	0,76	0,73
8 1ª fase	5,94	5,42	0,46	0,27
8 2ª fase	7,12	6,61	0,95	0,51
9 1ª fase	2,30	1,65	0,33	0,29
9 2ª fase	2,47	2,36	0,49	0,28
10 1ª fase	7,76	5,71	0,97	0,85
10 2ª fase	7,83	6,90	0,83	0,37
16 1ª fase	5,86	4,58	0,39	0,31
16 2ª fase	4,06	3,80	0,63	0,32
17 1ª fase	5,85	4,30	0,15	0,12
17 2ª fase	4,89	4,61	0,55	0,30

## 7.11. Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 2ª fase e dos ensaios descontínuos da 1ª fase que foram repetidos

**Tabela 7.7-** Eficiência de remoção da CQO total e solúvel dos ensaios descontínuos da 2ª fase e dos ensaios descontínuos da 1ª fase que foram repetidos.

Referência do ensaio	Eficiência de remoção [%]	
	CQO <sub>total</sub>	CQO <sub>solúvel</sub>
4 1ª fase	82,77	92,53
4 2ª fase	89,00	87,51
8 1ª fase	85,84	82,57
8 2ª fase	86,66	92,36
9 1ª fase	87,50	85,11
9 2ª fase	80,28	88,14
10 1ª fase	88,21	86,85
10 2ª fase	89,40	94,71
16 1ª fase	96,63	95,76
16 2ª fase	84,41	91,59
17 1ª fase	97,39	97,21
17 2ª fase	88,75	93,49

