



Universidade de Aveiro
2021

**Filipe Manuel
Sousa Silva**

**Tratamento de efluentes da produção de queijo em
reatores anaeróbios**



Universidade de Aveiro
2021

**Filipe Manuel
Sousa Silva**

Tratamento de efluentes da produção de queijo 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 este trabalho à memória do meu irmão e melhor amigo Bruno, que infelizmente partiu cedo de mais. Sem ele não estaria aqui.
Até um dia,

Eternas Saudades,

Filipe.

o júri

Presidente

Professora Doutora Maria Isabel da Silva Nunes

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 Ana Maria G. H. Barreiros Joanaz de Melo

Professora adjunta do Departamento de Engenharia Química do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa

agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Maria Helena Nadais pela sua disponibilidade, conhecimento e sugestões transmitidos ao longo da tese.

Um agradecimento especial ao meu amigo, engenheiro Carlos, que sem a sua ajuda, paciência e motivação não teria sido capaz.

Uma palavra de apreciação a Cátia por me ter ajudado na realização dos AOV.

À minha família pela confiança durante todo o meu percurso, que mesmo em tempos difíceis sempre acreditaram em mim.

Aos meus amigos por todas as palavras de incentivo nos momentos mais negros e pela sua força e entusiasmo.

À minha namorada, Agnieszka, não há palavras para descrever o apoio e motivação que me deu durante a realização desta tese, foi e é o meu porto seguro.

Por fim, ao meu irmão Bruno, que quando tinha dúvidas sobre continuar os estudos ou não, ele sempre me chamava à razão e dizia o quanto orgulhoso de mim estava. Eu também tenho muito orgulho em ti, e espero que, estejas onde estiveres, sintas o mesmo.

palavras-chave

Digestão anaeróbia; efluentes líquidos; reatores UASB; soro de leite com elevada salinidade.

resumo

Este trabalho teve como objetivo o estudo da degradação anaeróbia de soro de leite com elevada salinidade em reatores descontínuos de leito de lamas (reatores UASB – Upflow Anaerobic Sludge Bed reactors).

O soro de leite utilizado era proveniente de uma queijaria de produção artesanal no norte de Portugal.

Os ensaios foram realizados em reatores UASB descontínuos com recirculação, utilizando 4 cargas orgânicas, com e sem a adição de limalha de ferro como adjuvante. Um dos reatores era de controlo, enquanto que o outro continha limalha de ferro para se avaliar a sua influência nos resultados. Os ensaios foram monitorizados em termos de remoção de CQO (Carência Química de Oxigénio), produção de AOV's (Ácidos Orgânicos Voláteis) e metano.

Em todos os ensaios, verificaram-se eficiências de remoção de CQO superiores a 95% em ambos os reatores, eficiências de metanização com valores máximo de 20% e mínimo de 3% e valores de produção de AOV's de 8,48 e 525,55 mg Acido Acético/L, de mínimo e máximo, respetivamente. Foram também monitorizados o pH, condutividade e sólidos totais e voláteis ao longo dos ensaios.

No primeiro ensaio com adição de ferro verificou-se uma eficiência de metanização mais elevada do que no ensaio sem ferro, mas nos ensaios subsequentes, após um período de paragem de 4 meses, verificou-se que a presença de ferro não influenciou de forma significativa os valores de produção de metano e de remoção de CQO.

keywords

Anaerobic digestion; high salinity cheese whey; liquid waste; UASB reactor.

abstract

This work aimed to study the anaerobic degradation of whey with high salinity in discontinuous sludge bed reactors (UASB - Upflow Anaerobic Sludge Bed reactors).

The whey came from an artisanal cheese factory in northern Portugal.

The tests were carried out in discontinuous UASB reactors with recirculation using 4 organic loads with and without the addition of iron chips as an adjuvant. One of the reactors was a control reactor, while the other contained iron chips to assess its influence on the results. The tests were monitored in terms of COD removal (Chemical Oxygen Demand), production of VFA's (Volatile Fatty Acids) and methane.

In all tests, COD removal efficiencies greater than 95% were found in both reactors, and methanisation efficiencies with a maximum value of 20% and a minimum of 3% and VFA production values of 8.48 and 525.55 mg Acetic Acid / L, minimum and maximum, respectively. The pH, conductivity and total and volatile solids were also monitored throughout the tests.

In the first test with the addition of iron, a higher methanization efficiency was found than in the test without iron, but in the subsequent tests, after a period of stoppage of 4 months, it was found that the presence of iron did not have a significant influence in the values of methane production and COD removal.

Índice Geral

Índice Geral	xv
Índice de Figuras	xviii
Índice de Tabelas	xx
Lista de abreviaturas e nomenclatura	xxi
1. Introdução	1
1.1. Enquadramento	1
1.2. Motivações e Objetivos	2
1.3. Estrutura da dissertação	3
2. Produção de queijo e soro de queijo	5
2.1. Produção de queijo	5
2.1.1. Processo de fabrico de queijo	7
2.1.2. Caracterização da indústria de produção de queijo	9
2.2. Caracterização dos efluentes líquidos da produção de queijo	12
2.3. Caracterização do soro de queijo	14
2.3.1. Utilização e valorização do soro	15
2.3.2. Pré acidificação do soro de queijo	17
3. Digestão anaeróbia	19
3.1. Fases da digestão anaeróbia	19
3.1.1. Hidrólise	20
3.1.2. Acidogénese	21
3.1.3. Acetogénese	21
3.1.4. Metanogénese	21
3.2. Vantagens e desvantagens da digestão anaeróbia	22
3.3. Digestão anaeróbia aplicada a efluentes com alta salinidade	23
3.4. Digestão anaeróbia aplicada ao soro de queijo	24
3.5. Utilização de ferro na digestão anaeróbia	26
3.6. Reator anaeróbio do leito de lamas e fluxo ascendente	28
3.6.1. Funcionamento de um reator UASB	28
3.6.2. Vantagens e desvantagens da utilização de reatores UASB	30
3.7. Produção de biogás	30

3.8. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia	32
3.8.1. Temperatura	32
3.8.2. pH e alcalinidade	33
3.8.3. Inóculo	34
3.8.4. Nutrientes	34
3.8.5. Carga Orgânica	35
4. Metodologia.....	37
4.1. Reatores UASB	37
4.1.1. Sistema operacional dos reatores UASB	37
4.1.2. Condições de operação dos reatores UASB	40
4.2. Caracterização do substrato	42
4.3. Caracterização do inóculo	42
4.4. Caracterização do aditivo – limalha de ferro.....	43
4.5. Parâmetros de monitorização físico-químicos.....	44
4.5.1. pH e condutividade.....	44
4.5.2. Carência química de oxigénio	45
4.5.3. Sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis.....	46
4.5.4. Composição e quantidade de biogás.....	47
4.5.5. Ácidos orgânicos voláteis.....	48
4.6. Cálculos efetuados para o tratamento de resultados.....	50
4.6.1. Carga orgânica volúmica	50
4.6.2. Velocidade ascensional.....	51
4.6.3. Preparação da alimentação	51
4.6.4. Eficiência de remoção da CQO	52
4.6.5. Eficiência de metanização	53
5. Resultados e discussão	55
5.1. Carência química de oxigénio total e solúvel da alimentação.....	56
5.2. Carência química de oxigénio total e solúvel do efluente tratado.....	56
5.3. pH e condutividade.....	58
5.4. Sólidos suspensos totais e solúveis.....	61
5.5. Ácidos orgânicos voláteis.....	63

5.6. Eficiência de remoção de CQO	64
5.7. Metanização.....	67
5.7.1. Produção de metano.....	67
5.7.2. Percentagem de CH ₄ no biogás.....	69
5.7.3. Eficiência de metanização	69
6. Conclusões e sugestões de trabalho futuro	73
Referências bibliográficas	75
Anexos	A

Índice de Figuras

Figura 1 - Estimativa da produção e consumo de queijo no Mundo.	6
Figura 2 – Estimativa da produção e consumo de queijo na Europa, exceto Islândia.....	6
Figura 3 – Esquema do processo de fabrico de queijo.	9
Figura 4 - Evolução da temporal produção de queijo em Portugal.	11
Figura 5 – Esquema do processo de digestão anaeróbia.	20
Figura 6- Esquema de geral de um reator UASB.	29
Figura 7 – Esquema de um dos reatores UASB utilizado durante os ensaios.	38
Figura 8 – Esquema operacional dos reatores UASB utilizados nos ensaios.....	39
Figura 9 – Limalha de ferro adicionada ao reator.	44
Figura 10 - Perfil da evolução da CQO_{total} do efluente tratado ao longo dos diferentes ensaios.	57
Figura 11 - Perfil da evolução da $CQO_{solúvel}$ do efluente tratado ao longo dos diferentes ensaios.	57
Figura 12 - Gráfico comparativo da evolução de pH nos dois reatores.	59
Figura 13 - Gráfico comparativo da evolução da condutividade nos dois reatores.....	60
Figura 14 Gráfico da condutividade da alimentação e do efluente final, em função da carga orgânica aplicada	61
Figura 15 – Gráfico comparativo da evolução dos SST no efluente dos dois reatores.	62
Figura 16 – Gráfico comparativo da evolução dos SSV no efluente dos dois reatores.....	62
Figura 17 – Gráfico da evolução da concentração de AOV's nos diferentes ensaios.	64
Figura 18 - Perfil da evolução da eficiência de remoção de CQO.	65
Figura 19 – Gráfico da eficiência de remoção de CQO em função da carga orgânica aplicada.	66
Figura 20 – Gráfico de perfil do volume diário de metano produzido pelos reatores UASB.	67
Figura 21 – Gráfico de perfil do volume cumulativo de metano produzido pelos reatores UASB.	67
Figura 22 - Gráfico da evolução de percentagem de metano nos reatores UASB.	69
Figura 23 – Gráfico do perfil da evolução da eficiência de metanização dos ensaios nos reatores UASB.....	70

Figura 24 – Gráfico da eficiência final de metanização em função da carga orgânica aplicada.
..... 71

Índice de Tabelas

Tabela 1– Evolução da produção de queijo em Portugal.	11
Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos dos efluentes da produção de queijo.	13
Tabela 3 - Parâmetros físico-químicos do soro de queijo.	15
Tabela 4 – Influência do controlo de pH e temperatura na produção de biogás e redução de CQO.	32
Tabela 5 – Composição de elementos necessários na metanogénese.	35
Tabela 6 – Características dos reatores UASB.	37
Tabela 7 – Condições operativas dos reatores UASB.	41
Tabela 8 – Constituição das alimentações dos diferentes ensaios.	42
Tabela 9 - Caracterização do soro de leite utilizado na realização do processo experimental (média ± desvio padrão).	42
Tabela 10 – Caracterização das lamas anaeróbias utilizadas na realização experimental (média ± desvio padrão).	43
Tabela 11 – Condições de operação do cromatógrafo gasoso SRI 8610C.	47
Tabela 12 – Parâmetros de operação do cromatógrafo.	49
Tabela 13 – Theoretical Oxygen Demand para cada AOV.	50
Tabela 14 - Condições operativas dos reatores UASB.	55
Tabela 15 – Valores de CQO teórica e real da alimentação dos ensaios realizados nos reatores UASB.	56
Tabela 16 - Valores de pH e de condutividade das diferentes alimentações.	58
Tabela 17 – Concentração de AOV's totais no efluente tratado [mg ácido acético/L].	63

Lista de abreviaturas e nomenclatura

AGCL Ácidos gordos de cadeia longa

AOV Ácidos orgânicos voláteis

Bv Carga orgânica volúmica

CBO Carência bioquímica de oxigénio

CQO Carência química de oxigénio

CSTR Continuous stirred tank reactor – Reator de tanque agitado contínuo

ETAR Estação de tratamento de águas residuais

GLS Separador gás-líquido-sólido

SST Sólidos suspensos totais

SSV Sólidos suspensos voláteis

TKN Azoto de Kjeldahl

TOD Theoretical Oxygen Demand – Carência de oxigénio teórica

TRH Tempo de retenção hidráulico

UASB Upflow anaerobic sludge blanket - Reator anaeróbio de leito de lamas e fluxo ascendente

1. Introdução

1.1. Enquadramento

Neste século, a preocupação social e política com os problemas ambientais tem vindo a crescer uma vez que estes se têm tornado preocupantes e frequentes. Estes problemas devem-se ao elevado crescimento populacional e à desmedida procura de recursos por parte da humanidade, o que gera alterações no meio ambiente, essencialmente na qualidade do ar, da água e do solo.

Atualmente, a gestão de recursos e o tratamento e valorização de efluentes têm sido muito estudados de forma a fornecer o necessário à população de forma sustentável. Deste modo, a gestão de efluentes industriais tem sido visada pelas autoridades através da aplicação de medidas mais restritivas, de forma a que as indústrias se consciencializem da gravidade da situação e adotem medidas necessárias para reduzirem os impactos ambientais, correspondendo às normas impostas e melhorarem a sua imagem perante a sociedade.

A poluição gerada pelas indústrias de laticínios é um problema que tem vindo a gerar preocupação devido ao elevado consumo de água e à elevada dificuldade para tratar os seus efluentes, nomeadamente o soro de queijo.

As diferentes indústrias produzem efluentes distintos, sendo que o tratamento a adotar depende das características físico químicas dos efluentes. No entanto, os tratamentos que podem ser aplicados a efluentes industriais, são de cariz químico, físico e biológico. O tratamento biológico será o foco desta dissertação e é também o mais aplicado a efluentes industriais, sendo que pode ocorrer através da digestão aeróbia ou anaeróbia. A digestão aeróbia consiste na degradação de matéria orgânica por microrganismos na presença de oxigénio, enquanto que a digestão anaeróbia ocorre na ausência de oxigénio, e tem a capacidade para gerar produtos com reaproveitamento de energia, como o metano.

A utilização de aditivos no processo de digestão anaeróbia, como a limalha de ferro, é comum, tendo como objetivo a obtenção de melhores resultados em termos de eficiência.

1.2. Motivações e Objetivos

O queijo é um dos principais produtos agrícolas a nível mundial, sendo que é expectável que haja um aumento na sua produção nos próximos anos. A União Europeia lidera a produção e consumo deste subproduto do leite, seguida pelos Estados Unidos da América.

Para a produção de um quilo de queijo são produzidos cerca de nove litros de soro de queijo, estimando-se que a produção anual de soro de queijo é superior a 160 milhões de toneladas, das quais mais de 50% são descartadas diretamente no solo ou em massas de água sem qualquer tratamento prévio (Bedage, 2017; Charalambous, Shin, Shin, & Vyrides, 2020; G. Q. Chen, Talebi, Gras, Weeks, & Kentish, 2018).

Em Portugal, o subsetor do queijo é um dos maiores produtores de efluentes líquidos da indústria de laticínios (INETI, 2001). Os efluentes da produção de queijo apresentam um potencial de poluição muito elevado devido à presença de soro de queijo. O soro é dos efluentes mais difíceis de tratar devido à grande quantidade de matéria orgânica biodegradável nele presente (Charalambous et al., 2020; Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

Na região de Seia, distrito da Guarda, é produzido um queijo tipicamente português, o queijo Serra da Estrela. As queijarias responsáveis pela produção deste produto são essencialmente artesanais, de pequena dimensão e dispersas entre si. É produzido um soro de queijo com elevada carga orgânica e elevado teor de sal, que devido à não existência de infraestruturas adequadas ao tratamento deste efluente líquido, é direcionado para estações de tratamento de águas residuais (ETAR) ou rejeitado para os meios hídricos sem tratamento prévio. A deposição de soro no meio ambiente sem qualquer tratamento prévio representa um problema de poluição muito grave, pois afeta as características físico químicas do solo, resultando numa redução do rendimento das culturas, e, quando em contacto com massas de água, reduz a vida aquática esgotando o oxigénio dissolvido (Panesar & Kennedy, 2012).

Este é um problema sério de poluição, especialmente para pequenas e médias empresas de produção de queijo que não têm os recursos necessários para os processos de valorização ou tratamento do soro, quer de forma biológica e/ou físico-química (Kavacik & Topaloglu, 2010).

Face à falta de medidas de tratamento e/ou valorização de efluentes provenientes da indústria de laticínios, justifica-se a realização de um estudo sobre o tratamento anaeróbio aplicado ao soro de queijo, com o intuito de contribuir para a resolução de um problema ambiental que afeta dezenas de queijarias em diversas zonas do país.

Tendo em consideração os problemas apresentados, esta dissertação tem como principal objetivo contribuir para a determinação de condições operatórias adequadas à degradação anaeróbia de efluentes com elevada salinidade provenientes da produção de queijo. No decorrer deste trabalho consideraram-se os seguintes objetivos específicos:

- Estudar a viabilidade da utilização de reatores anaeróbios de leito de lamas e fluxo ascendente (UASB) no tratamento de anaeróbio de efluentes com elevada salinidade;
- Estudar a influência da presença de limalhas de ferro na degradação anaeróbia de soro de queijo de elevada salinidade em reatores UASB descontínuos com recirculação;
- Estudar o efeito da carga orgânica na degradação anaeróbia de soro de queijo de elevada salinidade em reatores UASB descontínuos com recirculação.

1.3. Estrutura da dissertação

Este trabalho encontra-se organizado em seis capítulos, referências bibliográficas e anexos.

- ✓ **Capítulo 1** é descrita uma breve introdução e enquadramento do tema principal desta dissertação, assim como os seus objetivos;
- ✓ **Capítulo 2** é apresentada uma revisão bibliográfica sobre a produção de queijo e soro de queijo.
- ✓ **Capítulo 3** apresenta o estado de arte sobre a digestão anaeróbia, a aplicação da mesma a efluentes com alta salinidade e ao soro de queijo, assim como o que são e como operam os reatores UASB;

- ✓ **Capítulo 4** descreve a metodologia utilizada no processo laboratorial deste trabalho, assim como os cálculos de apoio realizados para obtenção de resultados;
- ✓ **Capítulo 5** apresenta os resultados e a sua discussão;
- ✓ **Capítulo 6** apresenta as conclusões obtidas neste trabalho e sugestões para trabalhos futuros.

No final da dissertação podem ser encontradas as referências bibliográficas utilizadas assim como os anexos referidos.

2. Produção de queijo e soro de queijo

2.1. Produção de queijo

O queijo é um produto fresco ou maturado, que pode ser obtido através da separação parcial do leite ou do soro através da coagulação por ação do coalho, de enzimas, de bactérias e de ácidos orgânicos, podendo ser adicionados produtos como especiarias, condimentos e coagulantes para diferenciar a qualidade do queijo (Maganha, 2006). O queijo é constituído por água, gordura presente no leite, proteínas e minerais (INETI, 2001).

A atividade artesanal da produção de queijo existe há mais de 8000 anos (Fox et al., 2017). Devido ao aumento de consumo de queijo por parte da população, o processo artesanal não era suficiente para satisfazer as necessidades, o que desencadeou o desenvolvimento de indústrias de produção de queijo. A qualidade de queijo aumentou devido a duas inovações tecnológicas, que tornaram a qualidade do leite superior: refrigeração e uso de leite pasteurizado no fabrico de queijo (Johnson, 2017).

Atualmente, estima-se que a produção mundial de queijo seja cerca de 19 milhões de toneladas anuais, o equivalente à utilização de 35% da produção de leite anual. A Europa é o maior produtor, com uma estimativa anual de 11 milhões de toneladas de queijo (Fox et al., 2017).

Nas **Figuras 1 e 2** apresentam-se as estimativas para as produções e consumo de queijo nos próximos 10 anos, a nível mundial e europeu. De acordo com a análise dos gráficos, é visível um aumento gradual na produção de queijo, sendo que em 2029, a nível mundial, é esperada uma produção de 26 829 000 toneladas de queijo por semana.

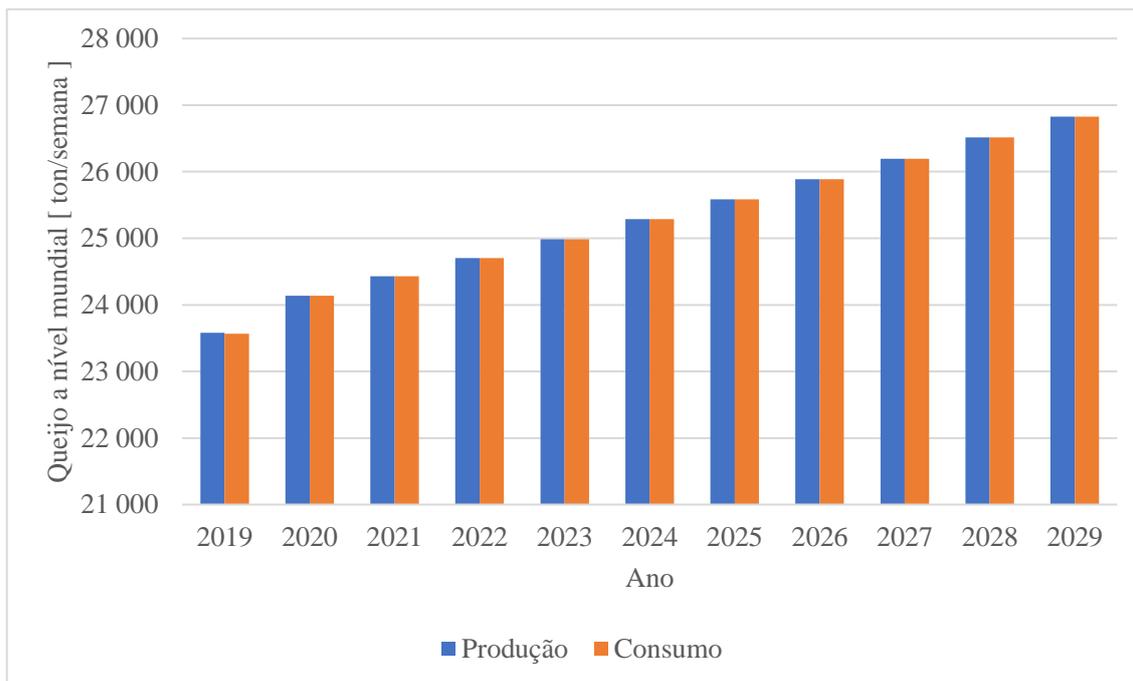


Figura 1 - Estimativa da produção e consumo de queijo no Mundo.
 Fonte: (OECD/FAO, 2020).

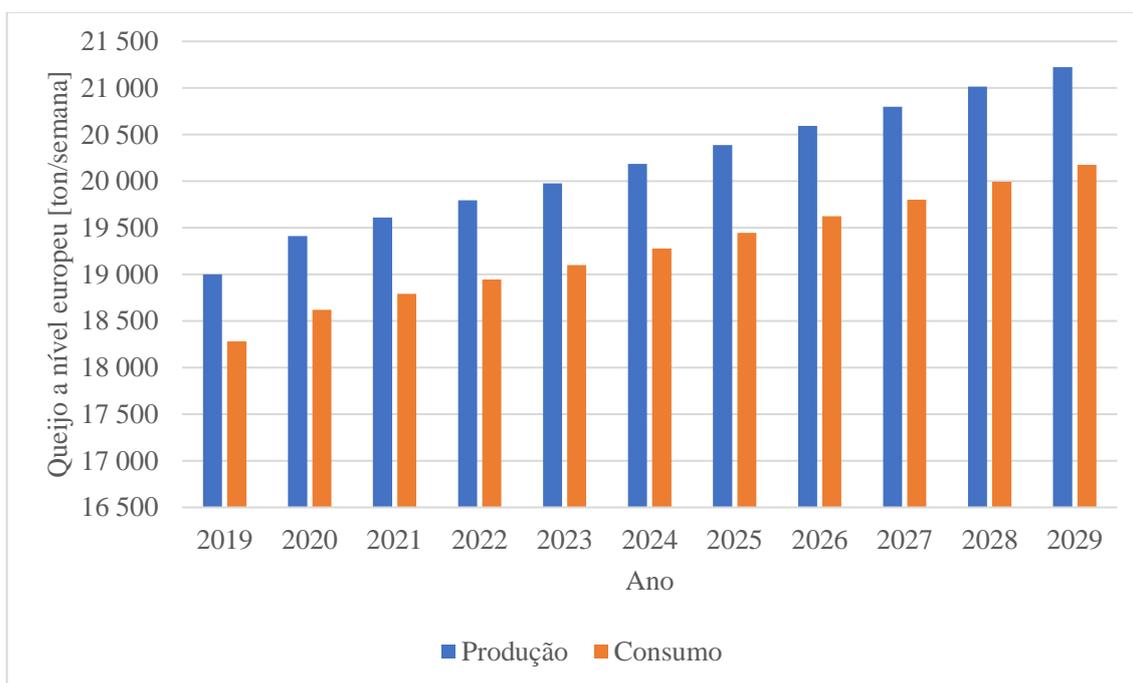


Figura 2 – Estimativa da produção e consumo de queijo na Europa, exceto Islândia.
 Fonte: (OECD/FAO, 2020).

Estas estatísticas demonstram a importância que o estudo do tratamento de efluentes provenientes da indústria produtora de queijo representa, uma vez que é expectável que a produção de soro de queijo continue a aumentar nos próximos anos.

2.1.1. Processo de fabrico de queijo

A coagulação da caseína é o ponto essencial no fabrico de queijo. O queijo pode apresentar inúmeras texturas e sabores (INETI, 2001).

De forma geral, para a maior parte dos queijos, o processo de produção de baseia-se nas seguintes etapas (INETI, 2001):

- Tratamento do leite – O processo de tratamento inicial do leite é de extrema importância uma vez que se reflete na qualidade do produto final. O leite deve ser mantido a uma temperatura de 4 °C durante o seu transporte e armazenamento, em tanques cisterna, respeitando todos os protocolos de higiene, sendo que pode ou não, ser realizada uma prévia termização para prevenir o crescimento de bactérias. Esta termização é aconselhada quando o leite não é imediatamente tratado. Seguem-se os processos de clarificação, pasteurização e normalização do leite, sendo este último passo importante dado que os queijos são classificados de acordo com o seu teor de gordura em base seca. A clarificação consiste na remoção de partículas existentes no leite, e a normalização assenta na desnatação ou adição de nata ao leite. A pasteurização traduz-se pelo aquecimento do leite, durante 15 a 20 segundos a temperaturas de 72-73 °C.
- Coagulação – Durante este procedimento forma-se a coalhada, um gel sólido, através da coagulação da caseína presente no leite. Para tal é adicionado o coalho ao leite a uma temperatura de aproximadamente 30 °C com agitação durante 3 minutos. De seguida o leite repousa por aproximadamente 40 minutos para que ocorra a coagulação. Quando atingido esse ponto, a coalhada é cortada e de seguida a mistura é agitada ocorrendo a drenagem do soro. Por fim, a coalhada é aquecida, por vapor ou água quente, para regular a acidez.
- Moldagem/prensagem – A coalhada é transferida para moldes específicos e prensada. A prensagem ocorre para melhorar a textura, dar forma ao queijo e para permitir que o soro de leite restante seja extraído.
- Desmoldagem - Os queijos são retirados dos moldes, referidos no ponto anterior.

- Salga – A adição do sal tem diversas funções no queijo. O sal tem a função de remover a humidade através do efeito osmótico, atua como um conservante, aumenta a segurança e contribui para o sabor (Fox, Guinee, Cogan, & McSweeney, 2016). Há três métodos de adição de sal, sendo que alguns tipos de queijo sofrem mais do que um tipo de salga (Fox et al., 2016):
 - Salga a seco, que consiste na adição de sal seco com pedaços de coalhada restante da prensagem;
 - Salmoura, que consiste em imergir o queijo em salmoura durante um período, por norma entre 12 horas e 5 dias, consoante o tipo de queijo. Salmoura é uma solução salina, com um teor de NaCl entre 18 e 25 %, e com um pH próximo de 5;
 - Salga de superfície, que consiste em esfregar a superfície dos queijos com sal;
 - No caso do queijo Serra da Estrela, que origina os efluentes com elevada salinidade em estudo, a adição de sal ocorre antes de o queijo ser formado, no processo de coagulação (Ribeiro, 2015).
- Cura – Os queijos são armazenados em condições específicas de temperatura e humidade, em diferentes câmaras de cura, conforme o tipo de queijo a produzir. Durante este processo os queijos são submetidos a transformações microbiológicas, físicas e químicas, que alteram a lactose, a proteína e a gordura.

Na **Figura 3** apresenta-se o esquema genérico da produção de queijo. Note-se que na produção de queijos que originam soro com elevada salinidade é realizada uma adição de sal antes da fase de coagulação.

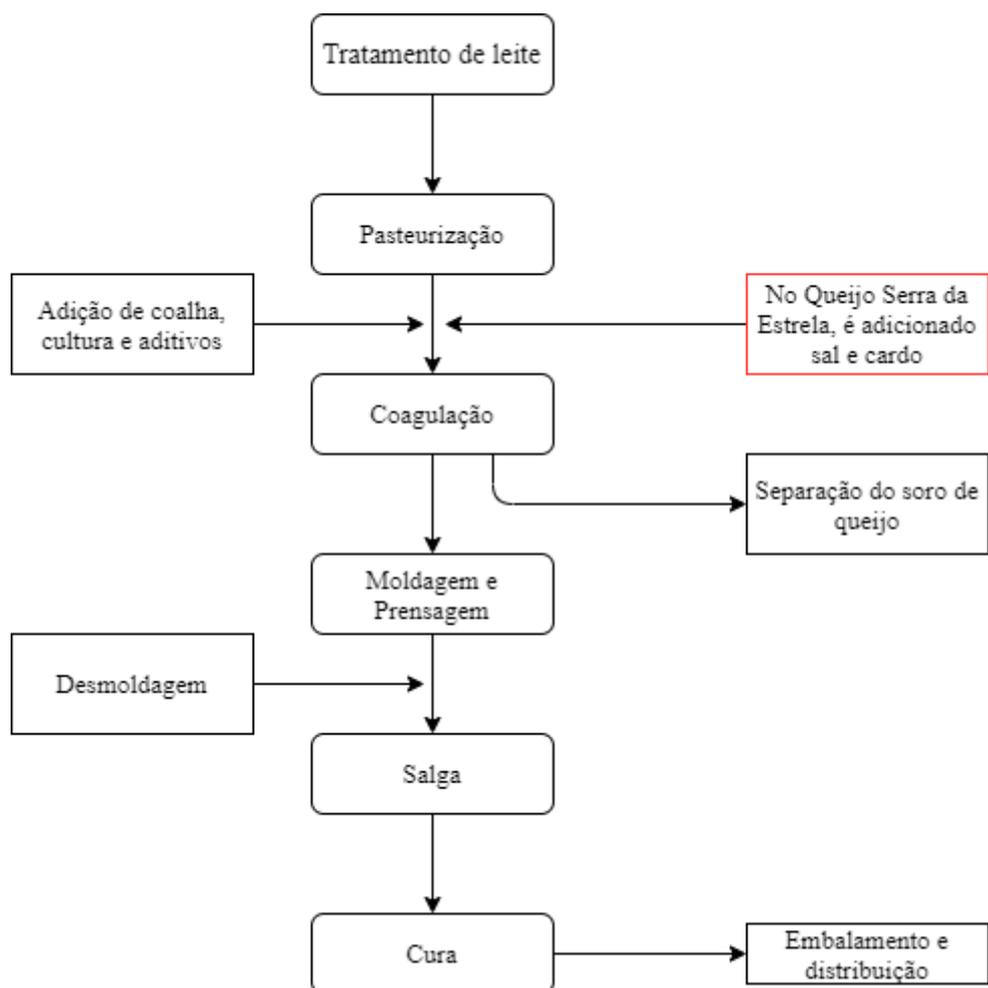


Figura 3 – Esquema do processo de fabrico de queijo.
Adaptado de (Fox et al., 2017).

2.1.2. Caracterização da indústria de produção de queijo

A indústria de lacticínios baseia-se no tratamento e processamento de leite em produtos como o queijo, iogurte, gelado, manteiga e todos os seus derivados através de processos como a pasteurização e coagulação (Carvalho, Prazeres, & Rivas, 2013), sendo uma das principais origens de efluentes orgânicos na Europa.

Muitas das indústrias produtoras de queijo, especialmente as de pequena dimensão, não possuem os sistemas de tratamento necessários para o tratamento ou valorização do soro sendo que as opções de destino final se traduzem em perdas com potencial fonte de energia, uma vez que o soro retém cerca de 55% dos nutrientes do leite (Panesar & Kennedy, 2012).

Para pequenas e médias empresas produtoras de queijo, e conseqüentemente de soro de queijo, é imperativa a adoção de tratamentos físico-químicos e/ou biológicos para o tratamento de soro, uma vez que estas instalações têm um grande problema relativo ao destino final do soro e não possuem, geralmente, condições financeiras para medidas de valorização do soro, como o reaproveitamento da lactose e da proteína do soro (Saddoud, Hassaïri, & Sayadi, 2007).

Em Portugal, a indústria de laticínios apresenta, de um modo geral, as seguintes características (INETI, 2001):

- Predominância de pequenas e médias empresas;
- Mão de obra pouco qualificada;
- Níveis de produtividade muito diversos;
- Diferenças nas tecnologias utilizadas.

A indústria produtora de queijo caracteriza-se pelo elevado número de pequenas empresas, dispersas no território e localizadas próximas dos produtores locais de leite. Estas empresas têm baixos recursos tecnológicos, pouco poder económico e não têm qualquer estrutura para tratamento ou valorização dos seus efluentes líquidos (GPP, 2007).

Analisando o gráfico da **Figura 4**, observa-se que a produção de queijo em Portugal tem vindo a aumentar, sendo que no ano de 2018 atingiu valores de 80 milhares de toneladas de queijo. Estes valores, sugerem que em Portugal, no ano de 2018, por aplicação da razão da massa de soro de queijo gerado por massa de queijo produzido, proposta por (G. Q. Chen et al., 2018) e apresentada anteriormente no **Capítulo 1**, produziu-se cerca de 720 milhões de litros de soro de queijo.

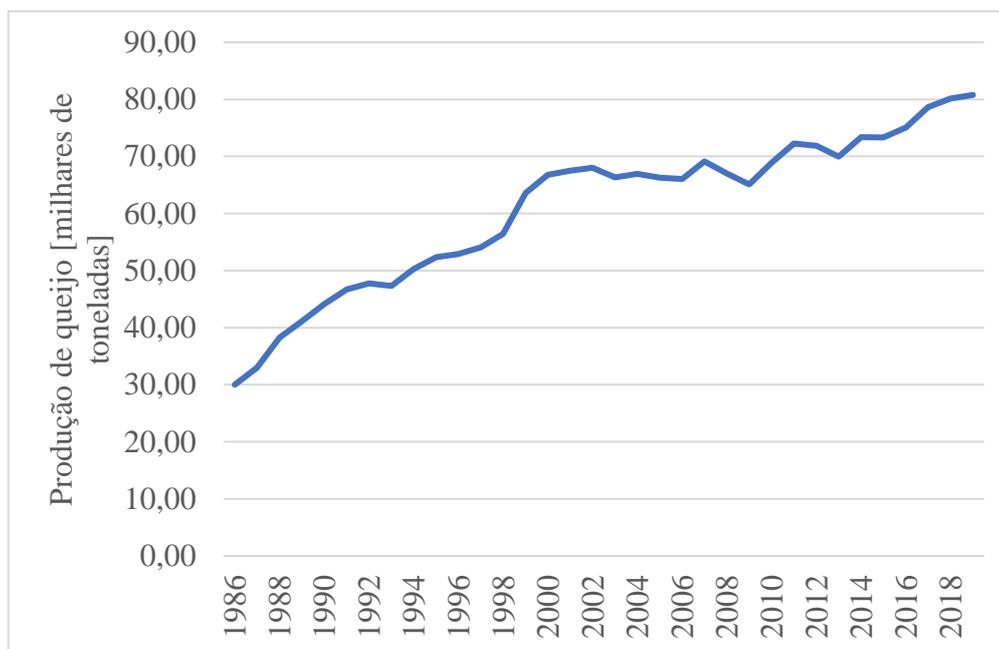


Figura 4 - Evolução da temporal produção de queijo em Portugal.
Fonte: (EUROSAT, 2020).

Na **Tabela 1**, apresentam-se os valores da produção de queijo, por tipo de queijo, em Portugal. Através da análise da tabela seguinte, é possível verificar que, em Portugal, a maior produção de queijo é realizada a partir do leite de vaca, representado mais de 70% da produção total.

Tabela 1– Evolução da produção de queijo em Portugal.
Fonte: (INE, 2020).

Tipo de Queijo	Produção de queijo por ano [tonelada]		
	2017	2018	2019
Vaca	62 460	60 770	62 744
Ovelha	11 845	11 653	11 667
Cabra	2 966	3 848	3 656
Mistura	6 035	7 783	6 214
Toral	83 306	84 054	84 281

Os queijos artesanais cuja produção origina o soro salgado utilizado neste trabalho, como o queijo do tipo Serra da Estrela, são feitos com leite de ovelha, de raça Bordaleira Serra da Estrela e Churra Mondegueira (Ribeiro, 2015).

2.2. Caracterização dos efluentes líquidos da produção de queijo

A quantidade e as características dos efluentes gerados na produção de queijo depende do tipo de queijo produzido, das técnicas utilizadas e do equipamento (Carvalho et al., 2013). É estimado, que por cada litro de leite processado, são produzidos cerca de 1,8 litros de efluente líquido (G. Q. Chen et al., 2018).

Os efluentes da produção de queijo são constituídos por diferentes diluições do leite, produtos do leite, como o soro, e produtos usados na manutenção e limpeza dos equipamentos, como lubrificantes e detergentes que contêm químicos ácidos e alcalinos (Carvalho et al., 2013).

O processo de produção de queijo é responsável por três principais tipos de efluentes (Carvalho et al., 2013):

- O soro de queijo, resultante da produção de queijo;
- O segundo soro de queijo ou sorelho, resultante da produção de requeijão;
- Águas residuais de soro de queijo, que contêm todos os anteriores, assim como detergentes e lubrificantes utilizados na manutenção e limpeza dos equipamentos, sendo a maior fatia de efluentes gerados.

De um modo geral, os efluentes provenientes da indústria de laticínios apresentam as seguintes características (Durham, Hourigan, & Sydney, 2009):

- Elevada carga orgânica, devido aos componentes presentes no leite;
- Variação no pH causada pela presença de agentes de limpeza e químicos;
- Elevada concentração de azoto e fósforo;
- Oscilações de temperatura.

Os efluentes líquidos da produção de queijo apresentam valores de carência química de oxigénio (CQO) entre 0,8 e 102 g/L e de carência bioquímica de oxigénio (CBO) entre 0,6 e 60 g/L, o que representa um grande consumo de oxigénio nas massas de água, sendo a

quantidade de lactose e gordura os principais responsáveis pela elevada carga orgânica referida (Carvalho et al., 2013). Com estes elevados teores de matéria orgânica, os efluentes líquidos da produção de queijo são um grande problema para as estações de tratamento de águas residuais que não têm capacidade para tratar efluentes provenientes de queijarias (Janczukowicz, Zieliński, & Debowski, 2008).

Num contexto global, estes efluentes apresentam valores de pH baixo, contudo, podem ser encontrados valores de pH entre 3,9 e 9,0. Relativamente aos sólidos suspensos apresentam valores entre 0,1 e 22 g/L, valores de fósforo total entre 0.1 e 1.7 g/L e concentrações de azoto de kjeldahl (TKN) compreendidas entre 0.006 e 0.5 g/L (Carvalho et al., 2013).

Estes efluentes apresentam um risco de eutrofização nas massas de água recetoras devido as seus conteúdos de fósforo e azoto total (Prazeres et al., 2012). A eutrofização origina problemas na qualidade da água, trazendo custos de purificação elevados e perda da biodiversidade. O azoto amoniacal apresenta valores de concentração entre 60 e 270 mg/L, o que pode originar problemas de toxicidade nas massas de água (Farizoglu, Keskinler, Yildiz, & Nuhoglu, 2007).

Na **Tabela 2** apresentam-se os valores de parâmetros físico-químicos dos efluentes da produção de queijo.

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos dos efluentes da produção de queijo.

Parâmetro	Gama de valores
pH	4,46 - 7,86
CQO _{total} [gO ₂ /L]	14,70 - 71,41
SST [g/L]	0,94 - 12,5
Proteína [g/kg]	1,88 - 125
Lactose [g/L]	16,35 - 57,50

Fonte: (Yang, Yu, & Hwang, 2003)(Lee, Kim, & Hwang, 2006)(Janczukowicz et al., 2008)(Gannoun, Khelifi, Bouallagui, Touhami, & Hamdi, 2008)(Ebrahimi, Najafpour, Mohammadi, & Hashemiyeh, 2010)

Os métodos mais utilizados no tratamento de efluentes da indústria de lacticínios, incluindo a indústria de produção de queijo, são os processos biológicos e físico-químicos (Kushwaha, Chandra Srivastava, & Mall, 2010).

2.3. Caracterização do soro de queijo

O soro de queijo é um líquido verde-amarelado resultante da precipitação e remoção da caseína do leite sendo considerado um dos efluentes líquidos mais poluentes da indústria de laticínios, não só pela sua carga orgânica, mas também pelo elevado volume gerado. A cor amarelada é consequência da presença de vitamina B2, a riboflavina (Charalambous et al., 2020; De Wit, 2001; Prazeres et al., 2012). O soro é um subproduto da produção de queijo, que é usado principalmente na alimentação de gado ou, descarregado para as estações de tratamento de águas residuais (Yorgun, Balcioglu, & Saygin, 2008).

O volume e características do soro estão relacionados com o tipo de leite utilizado na sua produção, cabra, vaca, ovelha ou búfalo, que variam consoante a alimentação do animal, a sua raça, saúde e a sua lactação (De Wit, 2001).

Este subproduto do queijo, representa cerca de 90% do volume de leite utilizado na produção de queijo e contém 55% dos seus nutrientes, sendo os principais nutrientes a lactose com cerca 45 a 50 g/L, as proteínas solúveis 6 a 8 g/L, os lípidos 4 a 5 g/L e sais minerais de extrato seco, 8 a 10% (Athanasopoulou, Tombrou, Pandis, & Russell, 2008; Charalambous et al., 2020).

O soro é um grande problema ambiental porque apresenta um grande conteúdo em matéria orgânica, sendo a lactose a principal responsável pela elevada carência de oxigénio, apresentando valores de CQO entre os 50 e 102 g/L e uma razão de CBO₅/CQO normalmente entre 0,4 a 0,8 (Athanasopoulou et al., 2008; Charalambous et al., 2020; Prazeres et al., 2012).

O soro tem uma biodegradabilidade de cerca de 99%, apresenta uma baixa alcalinidade com valores de 50 meq/L ou 2500 mg/L em matéria CaCO₃ e capacidade para produzir grandes quantidades de ácidos orgânicos voláteis através da biodegradação da lactose por ação das bactérias acidogénicas (Charalambous et al., 2020; Ergu, Tezel, Gu, & Demirer, 2001).

Os sais presentes no soro de queijo são compostos por NaCl e KCl, em mais de metade e sais de cálcio (Siso, 1996).

Através da precipitação da caseína ocorre a formação de dois tipos de soro: o soro ácido com pH inferior a 5, que é obtido através da fermentação ou adição de ácidos orgânicos/minerais, e o soro doce, com um pH entre 6 e 7, que é obtido pela adição de enzimas (Carvalho et al., 2013; Siso, 1996). O soro ácido apresenta maior teor de cinzas e menor concentração de proteínas, sendo que este soro tem mais limitações no seu reaproveitamento devido à sua alta salinidade e acidez (Carvalho et al., 2013).

O processamento das proteínas do soro pode ser utilizado em técnicas terapêuticas, tais como antioxidantes e anti-hipertensivo. Estas proteínas, através da hidrólise, libertam péptidos bioativos capazes de ativar efeitos fisiológicos no corpo humano (Macedo, 2010).

Na **Tabela 3** apresentam-se os parâmetros físico-químicos do soro de queijo, incluindo os valores de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) usualmente encontrados no soro de queijo.

Tabela 3 - Parâmetros físico-químicos do soro de queijo.

Parâmetro	Gama de valores
pH	3,86 - 7,60
CQO _{total} [gO ₂ /L]	53,85 - 102,10
CQO _{solúvel} [gO ₂ /L]	0,67 - 61,87
CBO ₅ [gO ₂ /L]	29,50 - 40,00
SST [g/L]	1,35 - 22,15
SSV [g/L]	5,61 - 6,27
Lactose [g/L]	42,60 - 55,00

Fonte: (Antonopoulou, Stamatelatu, Venetsaneas, Kornaros, & Lyberatos, 2008; Azbar, Çetinkaya Dokgöz, Keskin, Korkmaz, & Syed, 2009; Charalambous et al., 2020; Diamantis et al., 2014; Ebrahimi et al., 2010; Ferchichi, Crabbe, Gil, Hintz, & Almadidy, 2005; Gannoun et al., 2008; Ghaly & Kamal, 2004; Janczukowicz et al., 2008; Kalyuzhnyi, Perez Martinez, & Rodriguez Martinez, 1997; Saddoud et al., 2007; Siso, 1996; Yorgun et al., 2008)

2.3.1. Utilização e valorização do soro

Atualmente o soro é uma potencial matéria prima para produtos e processos inovadores, sendo que o seu processamento reduzirá o impacto ambiental (Panesar &

Kennedy, 2012). Apenas cerca de 50% de todo o soro de queijo produzido mundialmente é tratado e transformado, enquanto o restante é considerado um resíduo. Grande parte do soro é utilizado na sua forma líquida, 45%, enquanto que 30% é reutilizado na forma de pó, 15% como lactose e o restante como proteína de soro concentrada (Marwaha & Kennedy, 1988). O aumento da procura da proteína presente no soro tem vindo a reduzir a quantidade de soro despejada por parte da indústria, contudo, a lactose continua a ser desperdiçada em quantidades elevadas (Hassan & Nelson, 2012).

O soro tem vários destinos, tais como, a produção de proteínas, a alimentação de gado, o fabrico de requeijão, de manteiga, de iogurte, de bebidas e de gelados (Coelho, 2005; De Wit, 2001; Ergu et al., 2001). No entanto, quando não há possibilidade de reaproveitamento devem-se realizar dois tratamentos: retirar a gordura e neutralizar a acidez com cal, de forma a prevenir os impactos nas estações de tratamento de águas residuais e massas de água (Coelho, 2005).

O soro pode ter diversas utilizações de entre as quais se destacam (Marwaha & Kennedy, 1988):

- Produção de etanol;
- Produção de ácido láctico;
- Produção de proteínas;
- Produção de enzimas;
- Produção de biogás;
- Produção de bio hidrogénio.

A desmineralização do soro é um processo importante porque o soro apresenta em base seca, cerca de 8 a 12% de minerais, o que limita a sua utilização como um ingrediente alimentar. Através da desmineralização é possível valorizar o soro e aumentar as suas aplicações. Por exemplo, um soro desmineralizado em cerca de 30% pode ser utilizado na produção de gelados e em padarias (G. Q. Chen et al., 2018; G Gernigon, P Schuck, 2016).

2.3.2. Pré acidificação do soro de queijo

A pré-acidificação do soro de queijo é um processo de pré-tratamento utilizado para melhorar a etapa de metanização que ocorre durante a digestão anaeróbia (Diamantis & Aivasidis, 2018).

Um estudo realizado por (Diamantis et al., 2014), demonstrou que grande parte das águas residuais que sofrem o processo de pré-acidificação, contribuem para um desempenho estável de reatores UASB com uma elevada carga orgânica, assim como para uma baixa acumulação de ácidos orgânicos voláteis e para um baixo consumo de NaOH. Outra vantagem da utilização deste processo é a formação de ácido láctico e de, etanol e fermentação de ácidos butírico e acético, através da acidificação de carboidratos em condições de pH inferior a 5 (Diamantis et al., 2014). Contudo, este processo apresenta a precipitação severa de cálcio, sendo que é necessário um equilíbrio entre a acidificação, a limitação de precipitação de cálcio e o desempenho estável do reator (Van Langerak et al., 1998).

3. Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia consiste na redução biológica de compostos orgânicos, pela ação de microrganismos, numa mistura de gases essencialmente composta por CO₂ e CH₄, na ausência de oxigénio. Este processo envolve dois grupos principais de microrganismos anaeróbios: bactérias acidogénicas e microrganismos produtores de metano. O primeiro grupo de bactérias tem a função de transformar compostos orgânicos em CO₂ e ácidos orgânicos voláteis. Por sua vez, os microrganismos produtores de metano transformam estes produtos em metano (Chatzipaschali & Stamatis, 2012; Hassan & Nelson, 2012).

Sendo um tratamento com impactos positivos no ambiente dado o reaproveitamento do biogás para produção de energia, o processo anaeróbio é adequado ao tratamento e valorização do soro e permite que ocorra um controlo da poluição (Kavacik & Topaloglu, 2010).

3.1. Fases da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia tem sido um tema debatido e estudado ao longo dos anos, com alguns autores a proporem que este processo ocorre em duas etapas, enquanto outros consideram que ocorra em três a nove etapas (Siles, Martín, Chica, & Borja, 2008).

Contudo, a maioria dos autores defende que este processo se realiza em quatro fases: hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese (Demirel & Scherer, 2008; O'Flaherty, Collins, & Mahony, 2006).

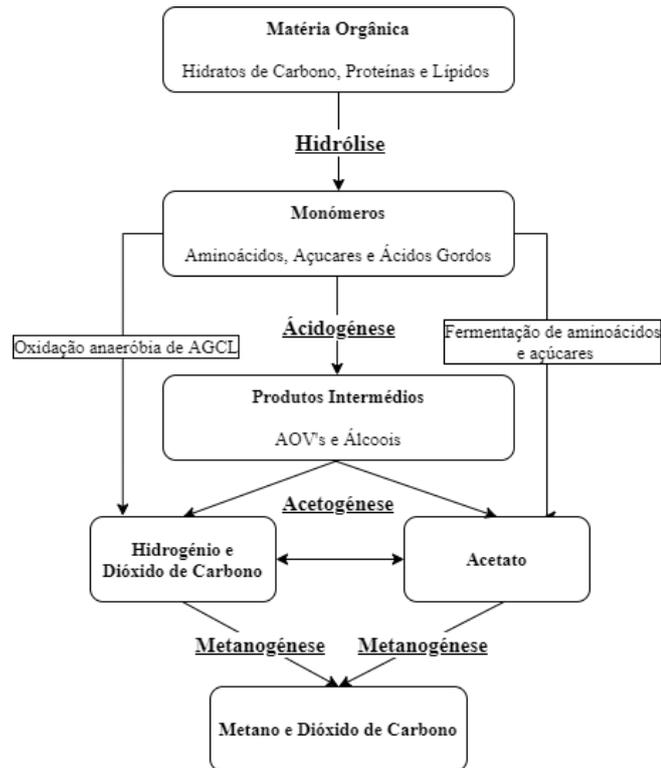


Figura 5 – Esquema do processo de digestão anaeróbia.
Adaptado de (Demirel & Scherer, 2008; O’Flaherty et al., 2006).

3.1.1. Hidrólise

A hidrólise é a primeira fase da digestão anaeróbia e consiste na conversão da matéria orgânica, como hidratos de carbono, proteínas e lípidos, nos seus monómeros (açúcares, aminoácidos e ácidos gordos), através da ação das enzimas excretadas pelas bactérias acidogénicas (Batstone et al., 2002; Koster & Lettinga, 1988). Esta etapa contempla três processos chave: desintegração, solubilização e hidrólise por parte das enzimas (Batstone et al., 2002).

A taxa de hidrólise da matéria orgânica é influenciada por diversos fatores como a temperatura, o tempo de retenção hidráulico, a dimensão e composição do substrato, o pH do meio envolvente e as concentrações dos iões de amónio, NH_4^+ , e nitrato, NO_3^- (Lettinga, Field, Van Lier, Zeeman, & Hulshoff Pol, 1997).

3.1.2. Acidogénese

Na fase de acidogénese, ou fermentação, os produtos da hidrólise são transportados para o interior das células fermentativas, onde são transformados através de dois métodos: oxidação anaeróbia para os ácidos gordos de cadeia longa (AGCL), e fermentação para os aminoácidos e açúcares (Demirel & Scherer, 2008). Os produtos da fase de acidogénese são os ácidos orgânicos voláteis e álcoois.

A acidogénese depende de dois tipos de bactérias essenciais à sua realização: anaeróbias facultativas e anaeróbias obrigatórias. As bactérias facultativas desempenham um papel muito importante uma vez que consomem o oxigénio dissolvido no efluente e mantêm o equilíbrio toxicológico de oxigénio para que as bactérias obrigatórias possam atuar. (Giraldo-Gomez, 1991). A maior parte desta etapa é realizada pelas bactérias anaeróbias obrigatórias.

Para que as bactérias acidogénicas tenham um bom desempenho é aconselhável que estejam num ambiente com um pH entre 5,2 e 6,5 (Giraldo-Gomez, 1991).

3.1.3. Acetogénese

A acetogénese é vista com uma etapa de ligação entre as fases iniciais e finais uma vez que fornece os substratos necessários à produção de metano, sendo eles o acetato, o dióxido de carbono e o hidrogénio. Os produtos da acidogénese são oxidados pelas bactérias produtoras obrigatórias de hidrogénio (O'Flaherty et al., 2006).

As transformações acetogénicas dependem da pressão parcial de hidrogénio, sendo importante que as bactérias produtoras obrigatórias de hidrogénio se desenvolvam em associação sintrófica com os microrganismos metanogénicos de hidrogenotróficos (O'Flaherty et al., 2006).

3.1.4. Metanogénese

A metanogénese é o bioprocesso na qual os microrganismos metanogénicos usam ácidos, dióxido de carbono e hidrogénio como os principais substratos para a produção de metano em condições anaeróbias (Zhao et al., 2017).

Os microrganismos responsáveis pela metanogénese são puramente anaeróbios e podem ser divididos em duas categorias (Demirel & Scherer, 2008; O’Flaherty et al., 2006):

- metanogénicos acetotróficos ou acetoclásticos, que transformam o acetato em metano. Estes são considerados os mais importantes na produção de metano uma vez que são responsáveis por 70% da produção total;
- metanogénicos hidrogenotróficos ou hidrogenofílicos, que formam metano por redução de H_2 e CO_2 .

3.2. Vantagens e desvantagens da digestão anaeróbia

A utilização da digestão anaeróbia no tratamento de efluentes orgânicos tem sido cada vez mais frequente devido às diversas vantagens que apresenta:

- Custo reduzido (Saddoud et al., 2007);
- Simplicidade de processos quando comparada com outros métodos de tratamento de resíduos (Saddoud et al., 2007);
- Baixa produção de lamas (Siles et al., 2008);
- Altas cargas orgânicas (Batstone et al., 2002);
- Produção de metano e elevada eficiência energética (Mata-Alvarez, Macé, & Llabrés, 2000; Siles et al., 2008);
- Não é necessária a diluição de resíduos com elevadas concentrações (Hassan & Nelson, 2012);
- Não é necessária a suplementação de oxigénio ou de grandes quantidades de nutrientes (Hassan & Nelson, 2012);
- Reduzida poluição atmosférica proveniente de maus odores (Ryhiner, Heinzle, & Dunn, 1993);

- Pode ser utilizada por mais de 8 meses sem que haja uma alimentação contínua, sendo por isso indicado para tratamentos sazonais (Siles et al., 2008).

Comparando a digestão anaeróbia com a digestão aeróbia, apenas metade da matéria orgânica degradável presente no resíduo pode ser estabilizada na digestão aeróbia, enquanto que na anaeróbia esse valor pode atingir 90% (Demirel, Yenigun, & Onay, 2005).

Contudo, a digestão anaeróbia apresenta desvantagens como os problemas de reação lenta que necessitam de TRH longos e instabilidade durante o processo, especialmente em resíduos que estão sujeitos a uma rápida acidificação (Saddoud et al., 2007). O constante controle do pH é outro problema apontado à digestão anaeróbia em resíduos da indústria de laticínios devido aos seus custos adicionais (Hassan & Nelson, 2012).

3.3. Digestão anaeróbia aplicada a efluentes com alta salinidade

Os efluentes que apresentam elevado teor de salinidade têm origem em diversas fontes, tais como, os processos de limpeza no local, que consiste na limpeza e sanitização de tubos, filtros, embarcações de transporte, sem que estas sejam removidas, e o processamento de soro. Quando o soro é tratado, os sais presentes no leite e no processo de salga ficam retidos no fluxo de resíduos (G. Q. Chen et al., 2018).

O sal, maioritariamente na forma de NaCl, um aromatizante de alimentos, é acumulado nos efluentes do processamento de alimentos.

O ião Na⁺ é um elemento essencial na produção e crescimento de células envolvidas no metabolismo da digestão anaeróbia. Na concentração adequada, pode promover a atividade enzimática, manter o equilíbrio do biofilme e regular a pressão osmótica no processo de crescimento microbiano. No entanto, quando os valores de concentração de Na⁺ são elevados, diminuem a produção de biogás e podem originar uma falha no sistema de digestão anaeróbia (Ye Chen, Cheng, & Creamer, 2008; Rinzema, van Lier, & Lettinga, 1988). Quando a concentração de Na⁺ é elevada, aumenta a pressão osmótica originando a perda de água intracelular nas células produtoras de metano e diminui a atividade enzimática nos microrganismos (Giyang Oh, 2008).

Em estudos já realizados, foi demonstrado que quando ocorre um aumento da concentração de Na^+ , a produção de metano é afetada. Por exemplo, um estudo demonstrou que, em reatores UASB, quando a concentração de Na^+ varia entre 5,0, 10,0 e 14,0 g/L, ocorre uma inibição da formação de acetato em metano de 10, 50 e 100%, respectivamente (Rinzema et al., 1988). Outro autor concluiu que para valores de Na^+ no intervalo de 3,0 a 3,5 g/L ocorre uma inibição moderada na atividade metanogénica e valores iguais ou superiores a 8,0 g/L causam uma inibição total da produção de metano (Ye Chen et al., 2008). A adição de NaCl afeta não só a produção de metano, como também atrasa o tempo de digestão (Zhao et al., 2017).

Zhao et al. (2017) constatou que aquando da adição de NaCl aos reatores, os níveis de hidratos de carbono e proteínas solúveis, aumentaram de 8596 para 12054 CQO/L e 2156 para 3124 CQO/L, respetivamente, concluindo que a presença de sal beneficia a produção de substratos orgânicos. A produção de ácidos gordos, um substrato essencial para a produção de metano, foi também afetado, demonstrando valores positivos para concentrações adequadas, gama de concentração de NaCl 0 a 5 g/L, enquanto que para concentrações elevadas, iguais ou superiores a 15 g/L se verifica uma diminuição na produção ácidos gordos (Zhao et al., 2017). É evidente que a concentração de NaCl nas soluções tem efeitos diretos na produção de metano (Zhao et al., 2017).

Vários autores consideram que a co-digestão de produtos com alta salinidade, juntamente com produtos orgânicos facilmente degradáveis pode ser a solução mais eficiente para a obtenção de valores razoáveis de produção de metano (Yinguang Chen, Luo, Yan, & Feng, 2013; Wu et al., 2016; Zhao et al., 2017).

3.4. Digestão anaeróbia aplicada ao soro de queijo

Devido à elevada carga orgânica, o soro de queijo é adequado ao tratamento por digestão anaeróbia, em especial devido ao elevado custo de suplementação de oxigénio em outros métodos de tratamento aeróbios (Ergu et al., 2001). Por norma, a digestão anaeróbia de soro de queijo ocorre em condições de temperatura compreendidas entre os 35 e 37 °C (Prazeres et al., 2012).

O soro pode ser muito difícil de tratar de forma anaeróbia, especialmente na forma pura, porque apresenta baixa alcalinidade, alta concentração de CQO, tendência para acidificar rapidamente e produzir material viscoso, resultando na diminuição da capacidade de sedimentação das lamas, o que poderá causar um “washout” da biomassa presente no interior do reator (Ergu et al., 2001). O soro é considerado por muitos autores o resíduo mais difícil de tratar e gerir proveniente da produção de queijo, devido às suas características específicas. O tratamento do soro de queijo por meio de digestão anaeróbia está restringido pela queda de pH que inibe a conversão de ácidos em metano (Rajeshwari, Balakrishnan, Kansal, Lata, & Kishore, 2000).

A digestão anaeróbia apresenta dificuldades em manter uma operação estável quando aplicada ao soro de queijo, sendo as principais razões para tal (Chatzipaschali & Stamatis, 2012; Vidal, Carvalho, Méndez, & Lema, 2000):

- Alta concentração de produtos facilmente degradáveis, CQO;
- A sua baixa capacidade de efeito tampão (buffering capacity);
- Alto teor de cálcio;
- Alta salinidade;
- Presença de proteínas e lípidos que implicam uma baixa biodegradabilidade.

A concentração de cálcio é um fator importante a considerar aquando da digestão anaeróbia do soro de queijo, uma vez que a concentração de cálcio pode variar entre 1.2 e 1.5 g/L (Carvalho et al., 2013). O cálcio contém macronutrientes necessários para as bactérias anaeróbias e representa um papel importante na granulação das lamas (van Lier, van der Zee, Frijters, & Ersahin, 2015). Contudo, a presença de cálcio leva à precipitação e cimentação do ião de Ca^{2+} nos tubos do reatores e outros componentes do digestor, influenciado também a ação das lamas anaeróbias, originando problemas que resultaram numa manutenção de equipamento dispendiosa e, em situações extremas, falha do reator (Diamantis & Aivasidis, 2018).

A alta salinidade que o soro apresenta, valores de condutividade próximos de 8 mS/cm, é o resultado da adição de NaCl durante a produção de queijo (Carvalho et al., 2013). A presença de gorduras pode causar a flutuação de lamas, impedindo a sua sedimentação na base do reator (Perle, Kimchie, & Shelef, 1995). Os produtos obtidos através da degradação da lactose têm o potencial para causar inibição parcial da fase de metanogénese (Vidal et al., 2000).

Por norma, a produção de ácidos orgânicos voláteis (AOV) é superior ao seu consumo na metanogénese, o que resulta numa acumulação de AOV no reator. Esta acumulação de ácidos orgânicos, juntamente com a baixa alcalinidade do soro, originam uma queda do pH e conseqüente inibição da atividade metanogénica reduzindo o desempenho do digestor (Charalambous et al., 2020).

3.5. Utilização de ferro na digestão anaeróbia

O ferro tem sido um dos aditivos utilizado para a melhoria do desempenho da digestão anaeróbia devido às suas propriedades de condutividade e do seu preço reduzido. Algumas vantagens conhecidas da utilização do ferro são:

- Capacidade para reduzir o potencial de oxidação-redução e providenciar um ambiente mais favorável à digestão anaeróbia (Liu, Zhang, Quan, Chen, & Zhao, 2010);
- Papel importante na atividade enzimática que desempenha função crucial na fermentação (Liu et al., 2012).

A oxidação de ferro promove a atividade microbiana que estimula a hidrólise e o processo de acidificação, disponibilizando mais matéria orgânica para a metanogénese (Y. Zhang, Feng, Yu, Xu, & Quan, 2014).

O ferro pode ser adicionado em diferentes formas, sendo elas:

- Fe(III), através da sua redução é favorável para a oxidação de compostos orgânicos em compostos simples (Liu et al., 2012). A redução de Fe(III) nas limalhas com ferrugem, promove a acidificação e hidrólise dos microrganismos, providenciando maior quantidade de matéria orgânica para

a metanogénese (Romero-Güiza, Vila, Mata-Alvarez, Chimenos, & Astals, 2016). Os efeitos positivos da adição de Fe(III) na digestão anaeróbia são atribuídos às suas condições de oxirredução favoráveis, que diminuem as exigências termodinâmicas na degradação de ácidos orgânicos voláteis (Cherosky & Li, 2013).

- Fe^0 , que através da sua ação como dador de eletrões, acelera as etapas de hidrólise e acidogénese (Karri, Sierra-Alvarez, & Field, 2005).

A adição de limalhas, limpas ou com ferrugem, ou pó de ferro tem um impacto positivo na produção de metano na digestão anaeróbia. A adição de limalhas de ferro com ferrugem é o método que origina um aumento mais elevado na produção de metano, cerca de 30% (Romero-Güiza et al., 2016; Y. Zhang et al., 2014).

A adição de ferro nas suas diversas formas resulta, de um modo geral, num aumento na produção de metano. Por exemplo, comparando o reator UASB de controlo com o reator com adição de ferro, (Y. Zhang, Jing, Zhang, Sun, & Quan, 2011), obtiveram um aumento de 0,87 para 2,11 $m^3 CH_4 L^{-1}d^{-1}$, enquanto que (J. Zhang et al., 2011), obtiveram um aumento de 5,6 para 10,5 $m^3 CH_4 L^{-1}d^{-1}$.

Não obstante, a redução de Fe(III), pode limitar a conversão de compostos orgânicos em metano, uma vez que a sua redução é, termodinamicamente, mais favorável que a metanogénese. A adição de Fe(III) pode inibir a atividade metanogénica entre 52 e 80% (L. Zhang, Keller, & Yuan, 2009).

Os mecanismos responsáveis pela inibição da metanogénese perante a adição de Fe(III), são a competição entre os microrganismos produtores de metano e as bactérias redutoras de Fe(III) por acetato e hidrogénio, e o aumento do potencial de redução no reator (Van Bodegom, Scholten, & Stams, 2004). Os organismos redutores de Fe(III), mantêm as concentrações de acetato e hidrogénio relativamente baixas, impedindo a ação dos microrganismos produtores de metano (Lovley & Phillips, 1987).

3.6. Reator anaeróbio do leito de lamas e fluxo ascendente

Os reatores do tipo anaeróbio do leito de lamas e fluxo ascendente (UASB) foram desenvolvidos da década de 70 na Holanda, como uma alternativa aos filtros anaeróbios, devido às limitações que estes apresentavam (Bachmann et al., 2008). Os reatores do tipo UASB têm sido utilizados ao longo dos anos para diferentes tipos de efluentes, desde águas residuais municipais, aos efluentes de destilarias e unidades de processamento de alimentos (Rajeshwari et al., 2000).

O aumento da utilização de reatores anaeróbios para o tratamento de águas residuais industriais e agrícolas é justificado pelo desenvolvimento de reatores que permite uma grande eficiência de retenção de sólidos biológicos e pela conversão de moléculas orgânicas em biogás (Ergu et al., 2001; Rajeshwari et al., 2000).

Estes reatores são os mais comuns e que melhor se adequam ao tratamento de resíduos provenientes da indústria de laticínios devido à sua capacidade para tratar em tempos reduzidos grandes volumes de efluente (Demirel et al., 2005).

Através da utilização de tempos de retenção hidráulicos (TRH) baixos, de 2,06 a 4,95 dias, é possível tratar anaerobiamente soro de queijo não diluído, sem problemas de estabilidade significativos, e com valores de TRH entre 2 a 3 dias é possível atingir eficiências de remoção de CQO entre 95% e 97% (Ergu et al., 2001).

A presença de metais (ferro, níquel, manganésio e cobalto para aumento da atividade da biomassa), suplementação de cálcio, o tipo de resíduos em questão e a metanogénese são fatores que influenciam o desempenho dos reatores UASB (Ergu et al., 2001).

3.6.1. Funcionamento de um reator UASB

O aspeto principal de um reator UASB é a presença de lamas ativas no seu interior. Neste tipo de reatores, as águas residuais ascendem através de um “cobertor” de lamas granulares. As lamas estão depositadas na base do reator através de sedimentação direta, permitindo elevados tempos de retenção de células. O efluente é introduzido no reator pela base, entrando em contacto com as lamas depositadas no interior, sendo que o gás produzido e o efluente são posteriormente recolhidos no topo do reator (Bachmann et al., 2008).

O gás produzido no interior do reator causa a agitação necessária para manter as lamas e o volume do reator em constante agitação (Bachmann et al., 2008).

Um reator UASB tem um separador de gás-sólido-líquido, que retém as lamas anaeróbias dentro do reator e previne o “washout”, um sistema de distribuição de alimentação constituído por uma bomba e um sistema de extração do efluente (Rajeshwari et al., 2000). Neste reator não é necessária a recirculação do efluente pois todo o efluente entra em contacto com as lamas depositados no interior do reator, uma vez que esta alimentação é realizada na base.

Na **Figura 6** encontra-se uma representação esquemática de um reator UASB.

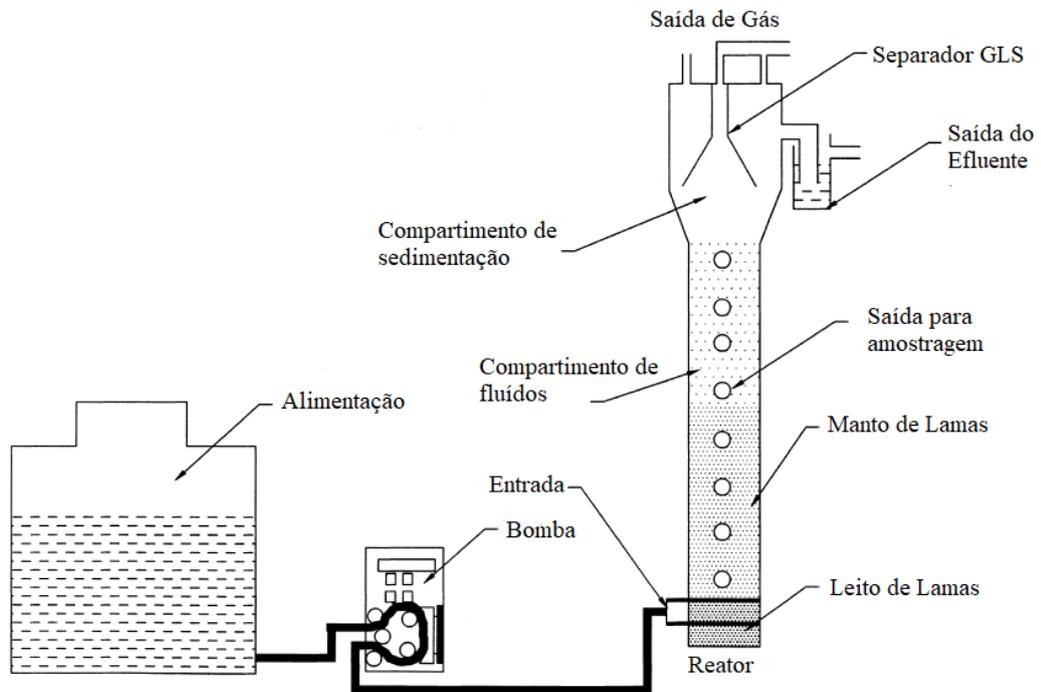


Figura 6- Esquema de geral de um reator UASB.
Adaptado de (Rajeshwari et al., 2000).

3.6.2. Vantagens e desvantagens da utilização de reatores UASB

Algumas das vantagens da utilização de reatores UASB são:

- Custo de investimento inferior quando comparado com outros reatores (Rajeshwari et al., 2000);
- Elevadas cargas orgânicas podem ser utilizadas nestes reatores comparando com outros reatores (Rajeshwari et al., 2000), podendo variar entre 1 – 30 g CQO L⁻¹ d⁻¹(Bachmann et al., 2008).
- A recirculação do efluente não é obrigatória (Bachmann et al., 2008);
- Tempo de retenção hidráulicos relativamente baixos, de 0.5 a 7 dias (Bachmann et al., 2008).

Devido à alta capacidade de floculação com elevada sedimentação de lamas, os reatores UASB são recomendados para o tratamento de diversos tipos de efluentes. No entanto, se o influente apresentar valores iniciais de CQO superiores a 40 – 42 g/L, este reator não é o aconselhado, sendo neste caso preferível optar por um reator de tanque agitado contínuo (CSTR) (Gavala, Kopsinis, Skiadas, Stamatelatou, & Lyberatos, 1999).

Um das mais notáveis desvantagens dos reatores UASB é o seu longo período de arranque juntamente com a necessidade de uma grande quantidade de lamas para o seu arranque mais rápido. Outro aspeto negativo deste reator é a possibilidade de ocorrência de “washout” das lamas numa fase inicial do processo (Rajeshwari et al., 2000). Requer um separador de gás-sólido-líquido, para prevenir o “washout” (Bachmann et al., 2008), assim como mão de obra especializada.

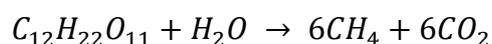
3.7. Produção de biogás

O biogás é uma mistura combustível composta principalmente por metano, hidrogénio, dióxido de carbono e vestígios de água (Bachmann et al., 2008), e pode ser utilizado na produção de calor e eletricidade (Kavacik & Topaloglu, 2010).

O soro de queijo é uma potencial fonte de produção de biocombustíveis, de entre os quais o biogás, rico em metano e hidrogénio (Ergu et al., 2001). A lactose é o principal hidrato de carbono presente no soro de queijo e é uma substância que sofre a ação das bactérias presentes na digestão anaeróbia produzindo ácidos orgânicos, como o ácido acético, importantes na metanogénese e produção de metano (Bachmann et al., 2008).

É possível estabelecer a relação estequiométrica entre a lactose e a produção de metano, expressa na **Equação 1** (Bachmann et al., 2008).

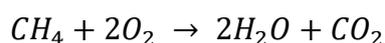
Equação 1



De acordo com a **Equação 1**, um 1 kg de lactose produzirá 0,42 m³ de CH₄. Aplicando-se a um soro de queijo com uma concentração de 50 g de lactose/L, a produção estimada será de 21,2 m³ CH₄/m³, que em valor energético, equivale a 740 MJ/m³ de soro (Bachmann et al., 2008).

No entanto, segundo Van den Berg (1982), pode também estabelecer-se esta relação com base na degradação de CQO, de acordo com a **Equação 2** (Van den Berg, 1982):

Equação 2



Pela **Equação 2**, obtém-se que, em condições normais de pressão e temperatura (PTN), por cada grama de CQO removida, produz-se 0,35 L de metano.

As águas residuais ricas em poluentes orgânicos são muito importantes para a produção de biogás, uma vez que se considera que estão em funcionamento mais de 4000 sistemas de tratamento anaeróbio de longa escala em todo o mundo (van Lier et al., 2015).

3.8. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo influenciado por fatores operacionais, condições técnicas e ambientais. A temperatura de operação assim como o pH são parâmetros que afetam o rendimento de produção de metano, uma vez que os microrganismos são sensíveis a esses parâmetros (Rajeshwari et al., 2000). Na tabela seguinte apresenta-se a influência do pH e da temperatura na produção de biogás e redução de CQO no tratamento de soro de queijo.

Tabela 4 – Influência do controle de pH e temperatura na produção de biogás e redução de CQO.
Fonte: (Rajeshwari et al., 2000).

Temperatura [°C]	TRH [dias]	Produção de biogás [L/dia]		Redução de CQO [%]	
		Com controle de pH	Sem controle de pH	Com controle de pH	Sem controle de pH
25	10	83,70	27,90	28,20	0,50
	15	71,30	24,80	38,20	6,10
	20	60,45	20,15	34,90	8,70
35	10	156,50	58,90	28,50	10,20
	15	139,25	49,60	33,60	13,40
	20	125,50	41,85	36,00	15,60

Analisando a **Tabela 4** é possível verificar que o pH e temperatura têm impactos muito importantes na digestão anaeróbia, em especial na produção de biogás. Para as mesmas condições de temperatura, o controle de pH pode significar um aumento na produção de mais de 50%.

3.8.1. Temperatura

A digestão anaeróbia é afetada de forma significativa pela variação da temperatura, sendo que se pode classificar de entre os três seguintes grupos: psicrófila (0 – 20°C), mesófila (20 – 42°C) e termófila (42 – 75°C). Os microrganismos são resistentes às alterações da temperatura desde que estas não atinjam o limite na qual a taxa de decomposição é superior à taxa de crescimento. Nos processos mesofílicos a taxa de crescimento e a atividade bacteriana diminuem para metade, quando a temperatura sofre um

decréscimo de 10°C. Assim, quanto menor a temperatura, maior o tempo de digestão para uma certa taxa de digestão (Rajeshwari et al., 2000).

Durante as primeiras fases da digestão anaeróbia, hidrólise e acidogénese, a influência da temperatura não é muito significativa, uma vez que há a presença de várias bactérias que atingem a sua condição ótima no intervalo de temperatura a que se encontram. No entanto, nas fases de acetogénese e metanogénese, onde a decomposição ocorre apenas por microrganismos especializados, sendo estes sensíveis, a temperatura é importante (Rajeshwari et al., 2000).

Uma característica importante sobre as bactérias anaeróbias é que a taxa de degradação a temperaturas inferiores a 15°C é extremamente baixa, tornando-se possível preservar a atividade anaeróbia das lamas durante grandes períodos. Isto é essencial para o tratamento anaeróbio de indústrias sazonais, podendo estar inativas durante o inverno (Ke, Shi, & Fang, 2005).

3.8.2. pH e alcalinidade

Devido à baixa capacidade de armazenamento do soro, o pH tende a baixar de forma drástica em digestores anaeróbios (Ghaly, 1996).

As reações anaeróbias são extremamente influenciadas pelo pH, sendo o pH ótimo para o lento crescimento de microrganismos produtores de metano entre 6,8 e 7,2, enquanto que para a rápida formação de bactérias ácidas um pH ácido é o aconselhado. Desta forma o pH pode ser utilizado como uma ferramenta para o controlo de população de bactérias acidogénicas. É importante realizar este controlo caso contrário pode ocorrer acumulação de ácidos voláteis, inibição da metanogénese e consequente falha do reator (Bachmann et al., 2008; Rajeshwari et al., 2000).

De forma a manter o pH estável, a adição de produtos químicos como o NaOH e o NaHCO₃ é aconselhada, no entanto tem custos operacionais acrescidos (Vyrides & Stuckey, 2017).

A suplementação de NaHCO_3 para aumentar a alcalinidade é a solução indicada, uma vez que permite o equilíbrio necessário sem afetar as características físicas e químicas da população microbiana (Bachmann et al., 2008; Rajeshwari et al., 2000).

3.8.3. Inóculo

Para obter um processo de digestão anaeróbia efetivo e uma otimização dos ecossistemas microbiais presentes, a seleção de um inóculo ótimo assim como um procedimento inicial são dois pontos importantes.

3.8.4. Nutrientes

A presença de íons na alimentação é importante para o desempenho anaeróbio uma vez que afeta o processo de granulação e a estabilidade de reator, como o UASB. As bactérias no processo anaeróbio necessitam de nutrientes como o azoto, ferro, potássio, cálcio e cobre para alcançarem o crescimento ótimo. A proporção ideal de C : N : P para uma produção de metano elevada, é 200 : 2.5 : 0.5 (Rajeshwari et al., 2000).

A mínima concentração de macro e micronutrientes necessária ao desempenho ótimo pode ser calculada tendo em consideração três fatores: a concentração de CQO biodegradável na água residual, o crescimento de células e a concentração de nutrientes na biomassa microbiana (Bachmann et al., 2008).

É recomendado que a concentração de nutrientes na alimentação seja duas vezes superior à concentração mínima necessária para que haja um pequeno excesso de nutrientes (Rajeshwari et al., 2000). Na **Tabela 5**, apresenta-se as concentrações dos elementos necessários na metanogénese.

Tabela 5 – Composição de elementos necessários na metanogénese.
Fonte: (Rajeshwari et al., 2000)

Micronutrientes		Macronutrientes	
Elemento	Concentração (mg/kg)	Elemento	Concentração (mg/kg)
Fe	1800	N	65000
Ni	100	P	15000
Co	75	K	10000
Mo	60	S	10000
Zn	60	Ca	4000
Mn	20	Mg	3000
Cu	10	-	-

3.8.5. Carga Orgânica

O efeito da carga orgânica é um aspeto importante, em especial quando se está perante um TRH elevado, onde o sobre carregamento de biomassa pode originar o “washout”. Reatores de filme fixo e leito fluidizado são reatores com a capacidade de lidar com altas cargas orgânicas, mesmo ocorrendo uma sobrecarga que origine falha do sistema, estes reatores têm a capacidade para restaurar a normalidade após um choque de carga (Rajeshwari et al., 2000).

4. Metodologia

4.1. Reatores UASB

Os reatores UASB que foram utilizados na realização desta dissertação eram idênticos e apresentavam as características que podem ser consultadas na **Tabela 6**.

Tabela 6 – Características dos reatores UASB.

Material	Acrílico
Diâmetro [cm]	9,50
Altura [cm]	85,00
Volume do sedimentador [L]	6,00
Área do leito [cm ²]	69,40

4.1.1. Sistema operacional dos reatores UASB

O sistema operacional era constituído por dois reatores UASB, em acrílico, com uma altura e volume útil de 85,0 cm e 6,0 litros, respetivamente, como referido na **Tabela 6**. Os reatores eram estruturalmente constituídos por duas partes, compartimento de digestão na parte inferior do reator, e compartimento de sedimentação na parte superior do mesmo (**Figura 7**).

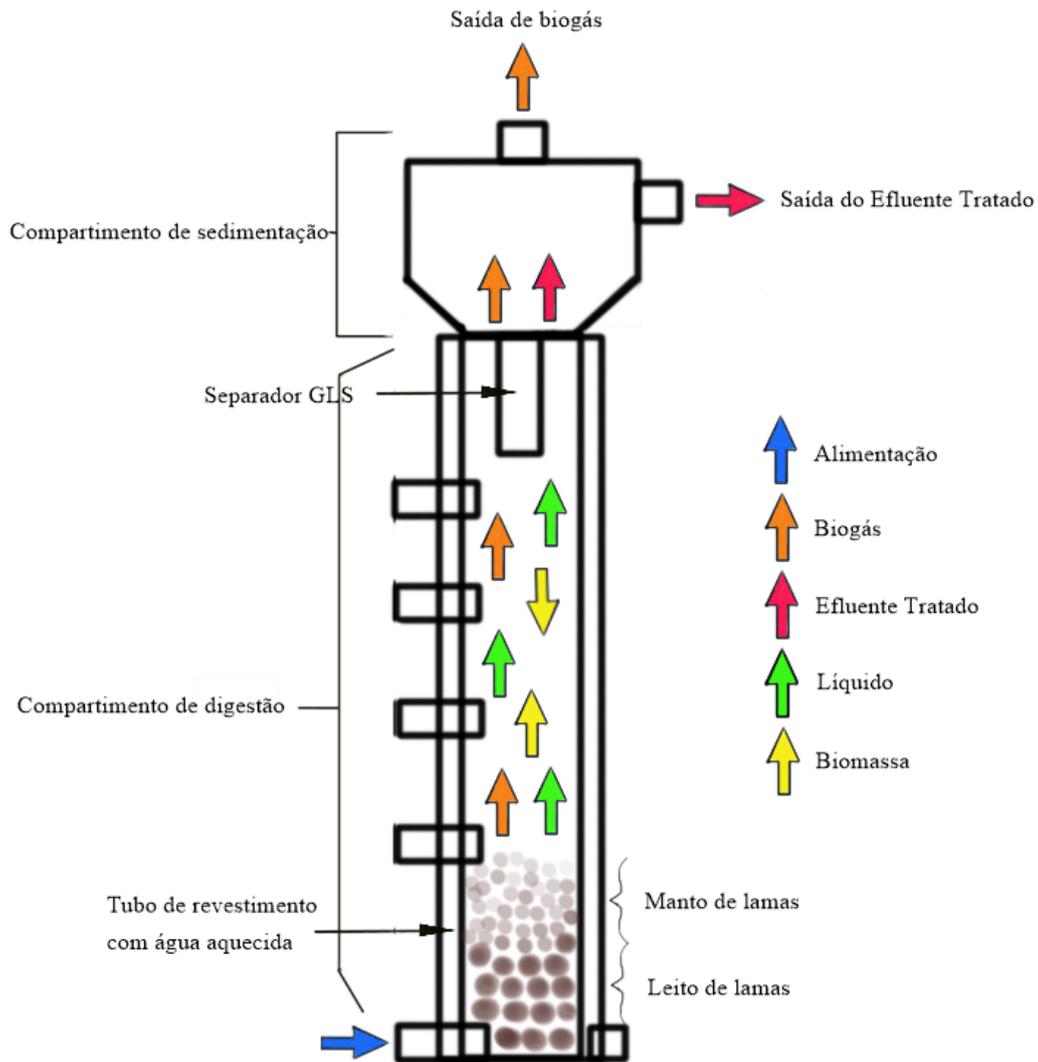


Figura 7 – Esquema de um dos reatores UASB utilizado durante os ensaios.

Na parte inferior do reator encontra-se o leito de lamas, manto de lamas e o separador gás, sólido e líquido. A alimentação era realizada na base do reator, sendo que existiam quatro outras aberturas para o exterior onde seria possível realizar amostragens do interior do reator assim como verificação de fugas. Todo este compartimento era revestido com um tubo com água a circular à temperatura de 35 °C proveniente de um banho com temperatura constante.

Na parte superior do reator existiam dois orifícios, um para a saída do efluente tratado e outro para a saída do biogás produzido no interior do reator.

A alimentação era feita através de uma bomba peristáltica WatsonMarlow 101UR, uma para cada reator. Previamente foi realizada a calibração dos caudais desejados apresentados no **Anexo A.1**.

A saída do efluente fazia-se por meio de um sifão, colocado na lateral da parte superior do reator, sendo encaminhado para um recipiente. O biogás era escoado por um orifício no topo do reator, sendo encaminhado para um borbulhador e conseqüentemente para um frasco de *Mariotte* com um volume de 10 litros. Entre o orifício de saída do biogás e o borbulhador, encontrava-se um septo que permitia a recolha de amostras de biogás utilizando uma seringa, para medições dos teores de CH_4 e CO_2 .

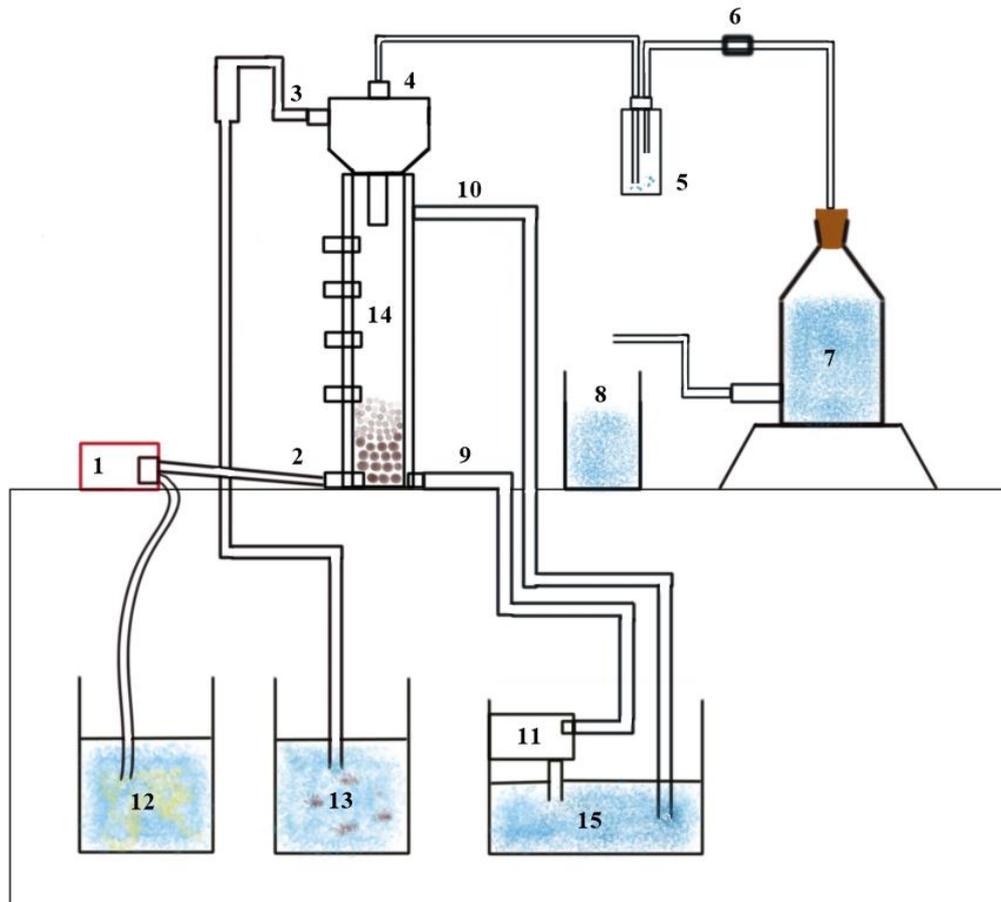


Figura 8 – Esquema operacional dos reatores UASB utilizados nos ensaios.

A legenda da **Figura 8** é a seguinte:

1. Bomba peristáltica WatsonMarlow 101UR;
2. Entrada da alimentação no reator;
3. Saída do efluente tratado;
4. Saída do biogás;
5. Borbulhador;
6. Septo para retirar amostragens de biogás;
7. Frasco de Mariotte;
8. Proveta graduada para medição da produção de biogás;
9. Entrada de água aquecida a 35 ° C;
10. Saída de água para o banho termostetizado;
11. Bomba e termostato;
12. Alimentação;
13. Efluente tratado;
14. Reator UASB;
15. Banho termostetizado.

4.1.2. Condições de operação dos reatores UASB

No início de cada ensaio o efluente tratado e alimentação tinha um recipiente diferente, com o intuito de fazer com que toda a alimentação passasse por dentro do reator uma vez, evitando também que se acumulasse gordura na superfície do líquido. Após 24 horas, quando o recipiente com a alimentação terminava, a alimentação era feita a partir do recipiente com o efluente tratado, passando os reatores a operar em modo descontínuo com recirculação. Quando o reator iniciava a alimentação em recirculação, eram colocadas válvulas antirretorno entre a bomba e o reator para prevenir que alguma biomassa presente no reator escapasse.

A produção de biogás era controlada através do deslocamento de água do frasco de *Mariotte* para uma proveta graduada por força da pressão exercida, sendo que o volume de água presente na proveta equivalia ao volume de biogás produzido.

A temperatura de operação dos reatores era de 35 °C. O TRH, caudal, SSV e velocidade ascensional mantiveram-se constantes a todos os ensaios, como é possível verificar na **Tabela 7**.

Tabela 7 – Condições operativas dos reatores UASB.

Ensaio	Temperatura [°C]	Caudal [L/h]	Velocidade ascensional [m/h]	TRH [h]	SSV [mg/L]	CQO _{teórico} da alimentação [gO ₂ /L]	Carga orgânica volúmica [gO ₂ /L.d]	Duração [dias]
I	35	0,50	0,071	12	12,00	4,00	8,00	6
II						4,00	8,00	14
III						6,00	12,00	7
IV						8,00	16,00	7
V						10,00	20,00	8

O ensaio I e II apresentam a mesma carga orgânica pois entre os mesmos ocorreu uma pausa de quase três meses dos serviços e instalações do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, que levou a uma paragem dos reatores. Decidiu-se então reiniciar os reatores com uma carga orgânica reduzida, repetindo a inicial.

Relativamente à alimentação, esta era produzida num recipiente contendo os volumes pré-definidos de soro, solução de micro e macronutrientes, solução de alcalinidade e água de rede pública para perfazer os 12 litros.

As constituições das diferentes alimentações podem ser consultadas na **Tabela 8**.

Os protocolos de preparação das soluções de nutrientes e de alcalinidade podem ser consultados nos **Anexos A.2, A.3 e A.4**.

Tabela 8 – Constituição das alimentações dos diferentes ensaios.

Ensaio	CQO _{teórico} [gO ₂ /L]	V _{soro} [mL]	Macronutrientes [mL]	Micronutrientes [mL]	Alcalinidade [mL]	V _{água} [mL]
I	4,00	385,00	12,00	24,00	240,00	11335
II	4,00	385,00				11335
III	6,00	575,00				11145
IV	8,00	765,00				10955
V	10,00	955,00				10765

Para avaliar o desempenho dos reatores em questão monitorizaram-se os seguintes parâmetros físico químicos: CQO_{total}, CQO_{solúvel}, pH, condutividade, SST, SSV, AOV, volume e composição do biogás.

4.2. Caracterização do substrato

O substrato utilizado na realização deste processo experimental foi soro de queijo proveniente de queijarias artesanais produtoras de Queijo Serra da Estrela, na região de Seia, distrito da Guarda. Na **Tabela 9** apresenta-se a sua caracterização.

Tabela 9 - Caracterização do soro de leite utilizado na realização do processo experimental (média ± desvio padrão).

	CQO _{total} [gO ₂ /L]	CQO _{solúvel} [gO ₂ /L]	SST [g/L]	SSV [g/L]	Condutividade [ms/cm]	pH
Soro de queijo	125,82 ± 0,68	57,09 ± 4,01	12,36 ± 0,68	10,16 ± 0,53	22,9 ± 0,29	5,1 ± 0,03

4.3. Caracterização do inóculo

O inóculo utilizado nos ensaios realizados nos reatores UASB foi biomassa anaeróbia, ou lamas anaeróbias, provenientes de um digestor anaeróbio da ETAR SIMRIA, localizada em Aveiro, no município de Ílhavo, freguesia de Gafanha da Encarnação. Após recolha das lamas na ETAR, procedeu-se à sua lavagem com água para remover o máximo de carga orgânica possível. O processo de lavagem consistiu na adição de água à biomassa e posterior decantação, após um período de 24 horas na qual ocorreu a sua sedimentação.

Este processo foi realizado duas vezes. Na **Tabela 10** apresenta-se a caracterização das lamas.

Tabela 10 – Caracterização das lamas anaeróbias utilizadas na realização experimental (média \pm desvio padrão).

	SST [mg/L]	SSV [mg/L]	CQO _{solúvel} [mgO ₂ /L]
Lamas anaeróbias	25,76 \pm 0,44	19,44 \pm 0,43	43,57 \pm 11,38

4.4. Caracterização do aditivo – limalha de ferro

Na realização deste trabalho foi utilizado um aditivo, a limalha de ferro, num dos reatores. A limalha utilizada é proveniente de uma empresa metalúrgica localizada na região de Aveiro. Após recolha da limalha procedeu-se à sua lavagem para retirar os resíduos de óleos nela presentes.

Inicialmente lavou-se a limalha com detergente e água quente, deixando-a a repousar durante duas horas, após as quais se procedeu a nova lavagem com água quente e detergente, deixando por 24 horas em repouso. Repetiu-se este processo por duas vezes para assegurar a máxima remoção de óleos possível.

Quando terminada a sua lavagem, pesou-se 389g \pm 0,05g numa balança digital. Teve-se o cuidado de seleccionar os fragmentos de menor diâmetro possível, como se pode verificar na **Figura 9**.



Figura 9 – Limalha de ferro adicionada ao reator.

4.5. Parâmetros de monitorização físico-químicos

Para a monitorização dos dois reatores UASB procedeu-se à recolha de amostras do efluente na saída do reator. Devido à impossibilidade de se realizar amostras diariamente, determinou-se três pontos essenciais: alimentação, 1 e 7 dias após o início do ensaio.

Os parâmetros analisados foram o pH, condutividade, CQO total e solúvel, os SST e SSV, composição e volume de biogás produzido no intervalo de tempo e AOV.

4.5.1. pH e condutividade

O pH é um parâmetro de escala adimensional que indica a acidez, neutralidade ou basicidade de soluções aquosas através do potencial de hidrogénio.

A condutividade é a capacidade que uma solução apresenta para conduzir eletricidade. Através da mesma é possível obter a salinidade uma vez que os sais que se dissolvem em solução aquosas originam iões que contribuem para a condutividade elétrica.

A medição destes parâmetros foi realizada através de um medidor Consort C-535 acoplado de dois elétrodos, um de xerolite e um de grafite, para medição de pH e condutividade, respetivamente.

Na realização da medição os elétrodos eram mergulhados na amostra, sendo agitados suavemente e quando o valor estabilizava era registado. Entre amostras ambos os elétrodos eram lavados com água destilada e secos com papel.

Foram realizadas calibrações a cada três semanas utilizando padrões de pH iguais a 4 e 7, e para a condutividade uma solução com condutividade igual a 1413 $\mu\text{s}/\text{cm}$.

4.5.2. Carência química de oxigénio

A carência química de oxigénio (CQO) baseia-se na quantidade de matéria orgânica, biodegradável ou não, presente numa amostra, passível de ser oxidada por meios químicos em condições controladas. É expressa em quantidade de oxigénio necessário para oxidar a matéria orgânica presente na amostra.

Para quantificar este parâmetro recorreu-se ao método de refluxo fechado e determinação em espectrofotometria, de acordo com o método 5520 D descrito no *Standard Methods* (APHA, 1998).

O procedimento para determinação de CQO total iniciou-se com a preparação da solução de digestão para cada tubo a digerir. A solução de digestão foi constituída por 1,5 mL de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) com sulfato de mercúrio (HgSO_4) e 3,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) com sulfato de prata (Ag_2SO_4). De seguida transferiu-se 2,5 mL da amostra para o tubo de digestão levando-o a digerir por 2 horas a uma temperatura de 150 °C. Por fim, procedeu-se à medição da CQO através de um espectrofotómetro, modelo Aqualytic PC023212, que converte a absorvência em CQO [mgO_2/L]. Para todas as análises de CQO foram realizadas três réplicas (APHA, 1998).

De salientar que a gama de medição do espectrofotómetro variava entre 100 e 900 [mgO_2/L], sendo que por vezes era necessário proceder à prévia diluição das amostras.

As soluções dos reagentes da solução de digestão foram preparadas de acordo com o método 5520 D, descrito no *Standard Methods* e a sua preparação pode ser consultada no **Anexo A.5** (APHA, 1998).

Relativamente à CQO solúvel, todo o processo foi igual ao anteriormente descrito, sendo que a única diferença foi a prévia filtração da amostra com filtros de microfibras de vidro, diâmetro de 47 mm e tamanho do poro de 1.2 µm.

4.5.3. Sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis

Os sólidos suspensos totais (SST) representam a quantidade de matéria orgânica e inorgânica em suspensão na amostra, enquanto que os sólidos suspensos voláteis (SSV) representam, aproximadamente, apenas a quantidade de matéria orgânica. Considera-se que através dos SSV é possível estimar a quantidade de microrganismos na amostra.

Os métodos adotados para a determinação de SST e SSV foram, respetivamente, os métodos 2540 D e 2540 E descritos no *Standard Methods* (APHA, 1998).

Inicialmente calcinou-se os filtros de microfibras de vidro (diâmetro 47 mm e tamanho de poros 1,2 µm) com os respetivos cadinhos na mufla a uma temperatura de 550°C durante 1 hora. Após arrefecimento à temperatura ambiente num exsiccador, eram pesados o filtro e respetivo cadinho ($m_{\text{cadinho+filtro}}$). De seguida procedeu-se à filtração por vácuo de um volume conhecido de amostra, no caso 2,5 mL. Seguidamente os filtros e cadinhos com os sólidos retidos foram encaminhados por 24 horas para uma estufa a 105°C. Após arrefecimento até a temperatura ambiente num exsiccador, procedeu-se a nova pesagem ($m_{\text{após estufa}}$). Para obtenção dos SSV, colocou-se os cadinhos e respetivos filtros durante 2 horas numa mufla a 550°C. Uma vez mais, após arrefecimento até a temperatura ambiente num exsiccador, realizou-se nova pesagem ($m_{\text{após mufla}}$).

Para a medição de cada ensaio eram realizadas três réplicas.

Para a determinação de SST utilizou-se a seguinte equação:

Equação 3

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

A determinação de SSV baseou-se na seguinte equação:

Equação 4

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

4.5.4. Composição e quantidade de biogás

A quantidade de biogás produzido num período era determinada através de um sistema de deslocamento de água, sendo que após medição do volume de água produzido este recipiente era esvaziado.

A composição de biogás foi monitorizada através de um cromatógrafo gasoso, modelo SRI 8610C, equipado com uma coluna de enchimento e um detetor de condutividade térmica.

As condições de operação do cromatógrafo apresentam-se na **Tabela 11**.

Tabela 11 – Condições de operação do cromatógrafo gasoso SRI 8610C.

Parâmetro	Características
Gás de arraste e caudal	Hélio; Q=10mL/min
Volume de amostra	2 mL
Temperatura	61 ± 1°C
Tempo de análise	5 min
Software de Integração	PeakSimple

Considerando os diferentes tempos de retenção do CO₂ e CH₄, obteve-se a área dos diferentes picos, sendo que através da **Equação 5 e 6** foi possível determinar a percentagem de dióxido de carbono e de metano na amostra.

Equação 5

$$\%CO_2 = 0,9924 * \left(\frac{Área_{CO_2}}{Área_{Total}} \right) * 100\%$$

Equação 6

$$\%CH_4 = 0,9896 * \left(\frac{Área_{CH_4}}{Área_{Total}} \right) * 100\%$$

Em que,

Área_{CO_2} : área do dióxido de carbono para o tempo de retenção do CO_2 (m^2);

Área_{CH_4} : área do metano para o tempo de retenção do CH_4 (m^2);

Área_{Total} : soma das áreas de CO_2 e CH_4 (m^2).

Para garantir que não ocorriam fugas de ar no reator, antes do início de cada ensaio, era injetado dentro do reator 100 mL de ar medindo-se a quantidade de líquido à saída.

4.5.5. Ácidos orgânicos voláteis

Neste trabalho determinou-se a concentração de ácido acético, ácido propiónico, ácido i-butírico, ácido n-butírico, ácido í-valérico, ácido n-valérico e ácido n-caprótico.

A determinação de ácidos orgânicos voláteis (AOV) iniciou-se com a filtração da amostra através de filtros de microfibras de vidro (Prat Dumas, diâmetro: 47mm). De seguida, transferiu-se para um frasco de polietileno 1 mL da amostra filtrada e 0,25 mL de ácido fórmico (1:10 (v/v)). As amostras foram posteriormente armazenadas a uma temperatura de 4°C até à análise.

Para determinação do teor de AOV presente em cada amostra, utilizou-se um cromatógrafo de gás PerkinElmer Clarus 480, equipado com um detetor de ionização de chama e uma coluna SGE, com dimensões de 25 m por 0,53 mm, ID-BPI 5,0 μm . Por sua vez, a obtenção e análise de resultados foi feita através do software TotalChrom Navigator. Na **Tabela 12** apresentam-se os parâmetros de operação do cromatógrafo.

Tabela 12 – Parâmetros de operação do cromatógrafo.

Parâmetro	Características
Características da coluna	SGE (25 m por 0,53 mm) ID-BPI 0,5 µm
Temperatura	Coluna – 70 °C Detetor – 240 °C Forno – 70 °C Injetor – 300 °C
Caudal de gases	Ar constituído (gás de chama) = 30 mL/min Azoto (gás de make-up) = 30 mL/min Hélio (gás de arraste) = 8 mL/min Hidrogénio (gás de chama) = 30 mL/min
Tempo de análise	18,21 minutos
Volume de amostra	0,5 µL
Software de análise	TotalChrom Navigator

A sequência utilizada no software de injeção baseou-se num arranque a 70°C durante 1 minuto, sendo que após esta fase a temperatura subia cerca de 20°C por minuto até atingir o valor de 100°C, durante 2 minutos. De seguida, a temperatura aumentava novamente 10°C por minuto até aos 140°C durante 1 minuto e finalmente a temperatura subia 30°C por minuto até alcançar a temperatura final de 220°C.

Foi necessário a realização da calibração do aparelho, utilizando padrões de ácidos puros, antes da análise das amostras, podendo o procedimento ser consultado no **Anexo A.6**.

Através do Theoretical Oxygen Demand (TOD), é possível converter a quantidade de ácido (mg_{Ácido}/L) em CQO (mgO₂/L), como se apresenta na **Equação 7**. Os valores de TOD para cada ácido apresentam-se na **Tabela 13**.

Equação 7

$$Concentração_{Ácido} \left(\frac{mg_{CQO}}{L} \right) = Concentração_{Ácido} \left(\frac{mg_{Ácido}}{L} \right) * TOD \left(\frac{mg_{CQO}}{mg_{Ácido}} \right)$$

Tabela 13 – Theoretical Oxygen Demand para cada AOV.

Ácido Orgânico Volátil	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

Na **Equação 8** apresenta-se a conversão de ácidos em concentração de ácido acético.

Equação 8

$$\begin{aligned} \text{Concentração}_{\text{Ácido } i} \left(\frac{\text{mg}_{\text{Ácido acético}}}{L} \right) \\ = \frac{\text{Concentração}_{\text{Ácido } i} \left(\frac{\text{mg}_{\text{Ácido } i}}{L} \right) * \text{Massa Molar}_{\text{Ácido acético}} \left(\frac{g}{\text{mol}} \right)}{\text{Massa Molar}_{\text{Ácido } i} \left(\frac{g}{\text{mol}} \right)} \end{aligned}$$

4.6. Cálculos efetuados para o tratamento de resultados

4.6.1. Carga orgânica volúmica

A carga orgânica volúmica (Bv) determina a quantidade de matéria orgânica que entra no reator por unidade de volume num determinado período. Através da **Equação 9** obteve-se a carga orgânica volúmica.

Equação 9

$$Bv \left[\frac{gO_2}{L \cdot dia} \right] = \frac{CQO_{\text{Alimentação}} \left[\frac{gO_2}{L} \right] * \text{Caudal} \left[\frac{L}{h} \right] * 24 \left[\frac{h}{d} \right]}{\text{Volume do reator} [L]}$$

4.6.2. Velocidade ascensional

A velocidade ascensional é a velocidade com que o líquido ascende no interior do reator, sendo determinada através da seguinte equação:

Equação 10

$$\text{Velocidade Ascensional} \left[\frac{m}{h} \right] = \frac{\text{Caudal} \left[\frac{m^3}{h} \right]}{\text{Área do leito do reator UASB} [m^2]}$$

4.6.3. Preparação da alimentação

Para determinar o volume de soro e da solução de alcalinidade que se deve adicionar à alimentação para cada ensaio foi utilizada a **Equação 11**.

Equação 11

$$\text{Concentração}_{inicial} \left[\frac{mg_x}{L} \right] * V_{inicial} [L] = \text{Concentração}_{final} \left[\frac{mg_x}{L} \right] * \text{Volume}_{final} [L]$$

No caso do soro de queijo,

$\text{Concentração}_{inicial} \left[\frac{mgO_2}{L} \right]$ é a CQO total do soro;

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

$\text{Concentração}_{final} \left[\frac{mgO_2}{L} \right]$ é a CQO total pretendida na alimentação;

$\text{Volume}_{final} [L]$ é o volume da alimentação.

No caso da alcalinidade,

$\text{Concentração}_{inicial} \left[\frac{mgKHCO_3}{L} \right]$ é a concentração da solução de alcalinidade;

$V_{inicial} [L]$ é o volume da solução de alcalinidade a adicionar à alimentação;

$\text{Concentração}_{final} \left[\frac{mgKHCO_3}{L} \right]$ é a concentração de alcalinidade pretendida na alimentação;

$Volume_{final}[L]$ é o volume da alimentação.

A preparação da solução de alcalinidade está descrita no **Anexo A.2**.

Para determinar a quantidade de lamas anaeróbias a adicionar ao reator, utilizou-se também a **Equação 11**.

Em que no caso das lamas anaeróbias,

$Concentração_{inicial} \left[\frac{mgSSV}{L} \right]$ é o teor de SSV das lamas;

$V_{inicial}[L]$ é o volume de lamas a adicionar ao reator;

$Concentração_{final} \left[\frac{mgSSV}{L} \right]$ é o teor de SSVt pretendido no interior do reator;

$Volume_{final}[L]$ é o volume útil do reator

4.6.4. Eficiência de remoção da CQO

A CQO removida é a diferença entre a CQO_{total} da alimentação e a CQO_{solúvel} do efluente tratado. Para obter esta diferença, determinou-se a massa de CQO alimentada aos reatores e a massa de CQO remanescente, sendo que a massa de CQO removida é obtida pela **Equação 12**.

Equação 12

$$massaCQO_{removida} = massaCQO_{Alimentação}[g] - massaCQO_{Remanescente}[g]$$

A massa de CQO alimentada aos reatores ($massaCQO_{Alimentação}$) e a massa de CQO remanescente ($massaCQO_{Remanescente}$), foram obtidas através das **Equações 13 e 14**, respetivamente.

Equação 13

$$massaCQO_{Alimentação}[g] = Volume_{Alimentação}[L] * CQO_{Alimentação} \left[\frac{g}{L} \right]$$

Equação 14

$$massaCQO_{Remanescente}[g] = CQO_{Sol.Ef.Tratad} \left[\frac{g}{L} \right] * (Vol_{Reator}[L] + Vol_{Alimentação}[L])$$

A eficiência de remoção de CQO, em termos de porcentagem, determinou-se através da seguinte equação:

Equação 15

$$EficiênciaRemoçãoCQO[\%] = \left(\frac{massaCQO_{Removida}[g]}{massaCQO_{Alimentação}[g]} \right) * 100\%$$

4.6.5. Eficiência de metanização

A eficiência de metanização indica a quantidade de CQO que foi removida e deu origem a metano, em porcentagem.

Tendo apenas acesso ao volume de metano que foi produzido, foi necessário recorrer à Equação dos Gases Perfeitos (**Equação 16**) para determinar o número de moles de CH₄ produzidas.

Equação 16

$$P [atm] * V [L] = n [moles] * R \left[\frac{L \cdot atm}{K \cdot moles} \right] * T [K]$$

Onde,

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 dos Gases Perfeitos;

T [K] é a temperatura ambiente;

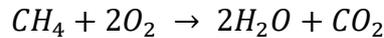
Considerando a temperatura ambiente igual a 20 °C e a constante dos gases perfeitos, R = 0,082057 [(L.atm)/(K.moles)]:

$$1 [atm] * V [L] = n [moles] * 0.082057 \left[\frac{L \cdot atm}{K \cdot moles} \right] * (273.15 + 20) [K]$$

⇔

$$\frac{n \left[\frac{\text{moles}}{L} \right]}{V} = \frac{1 \text{ [atm]}}{0.082057 \left[\frac{L \cdot \text{atm}}{K \cdot \text{moles}} \right] * (273.15 + 20) \text{ [K]}} = 0.0416 \left[\frac{\text{moles } CH_4}{L \text{ } CH_4} \right]$$

Recorrendo à **Equação 2**, referida no **Capítulo 3.2**,



Pela estequiometria da equação acima, observa-se, que para cada mole de CH₄ são necessárias 2 moles de O₂. Convertendo moles para massa sendo a massa molar do oxigénio 16 (gramas O) / (moles O), são necessárias 64 g de oxigénio por cada mol de metano (**Equação 17**).

Equação 17

$$2 * \text{Massa Molar } O \left[\frac{\text{gramas } O}{\text{moles } O} \right] * 2 \left[\frac{\text{moles } O_2}{\text{moles } CH_4} \right] = 64 \left[\frac{\text{gramas } O_2}{\text{moles } CH_4} \right]$$

Desta forma, a massa de CQO convertida para metano determina-se pela seguinte equação:

Equação 18

$$\text{massa}_{CQO \rightarrow CH_4} [\text{gramas } O_2] = 0.0416 \left[\frac{\text{moles } CH_4}{L \text{ } CH_4} \right] * 64 \left[\frac{\text{gramas } O_2}{\text{moles } CH_4} \right] * V_{CH_4} [L \text{ } CH_4]$$

Onde,

$\text{massa}_{CQO \rightarrow CH_4} [\text{gramas } O_2]$ é a massa de CQO que é convertida em CH₄;

$V_{CH_4} [L \text{ } CH_4]$ é o volume produzido de metano;

A eficiência de metanização determina-se de acordo com a equação seguinte:

Equação 19

$$\text{Eficiência Metanização } [\%] = \left(\frac{\text{massa}_{CQO \rightarrow CH_4} [\text{gramas } O_2]}{\text{massa}_{CQO \text{ removida}} [\text{gramas } O_2]} \right) * 100$$

5. Resultados e discussão

O objetivo deste trabalho foi a determinação das condições de operação em reatores UASB adequadas à degradação anaeróbia de soro de queijo com elevada salinidade.

Os reatores operaram em modo descontínuo com recirculação por razões de disponibilidade do soro. Por outras palavras, a alimentação e saída do efluente eram realizados no mesmo recipiente. Contudo, a recirculação iniciava-se apenas após toda a alimentação passar pelo interior do reator pelo menos uma vez, 24 horas após o início. Assim evitava-se que a gordura se acumulasse na superfície da alimentação.

No **Anexo A.7** encontram-se os valores de recolha dos diferentes parâmetros a analisar.

Na tabela seguinte apresenta-se as condições de operação de ambos os reatores assim como as diferentes cargas orgânicas operadas, iniciando da mais baixa para a maior.

Tabela 14 - Condições operativas dos reatores UASB

Ensaio	Temperatura [°C]	Caudal [L/h]	Velocidade ascensional [m/h]	TRH [h]	SSV [mg/L]	CQO _{teórico} da alimentação [gO ₂ /L]	Carga orgânica volúmica [gO ₂ /L.d]	Duração [dias]
I	35	0,50	0,071	12	12,00	4,00	8,00	6
II						4,00	8,00	14
III						6,00	12,00	7
IV						8,00	16,00	7
V						10,00	20,00	8

A apresentação de resultados foi realizada na forma de gráficos e tabelas, comparando sempre os dois reatores, com limalha de ferro e de controlo, por forma a observar a influência do aditivo no processo de digestão anaeróbia.

5.1. Carência química de oxigênio total e solúvel da alimentação

As concentrações de CQO práticas presentes em cada ensaio de alimentação apresentam-se na tabela seguinte.

Tabela 15 – Valores de CQO teórica e real da alimentação dos ensaios realizados nos reatores UASB.

Ensaio	CQO _{teórico} [gO ₂ /L]	Reator com aditivo		Reator sem aditivo	
		CQO _{total} [gO ₂ /L]	CQO _{solúvel} [gO ₂ /L]	CQO _{total} [gO ₂ /L]	CQO _{solúvel} [gO ₂ /L]
I	4,00	4,28	2,95	5,46	3,30
II	4,00	3,51	1,38	3,63	1,40
III	6,00	5,60	2,08	5,13	3,32
IV	8,00	9,05	5,08	7,49	4,60
V	10,00	9,81	5,41	10,04	4,50

Após análise da **Tabela 15** é possível constatar uma ligeira variabilidade face aos valores desejados. Tal facto, pode-se explicar devido à presença de gordura e pedaços de queijo na composição do soro de queijo. Como expectável, a maior parte da matéria orgânica presente na alimentação encontra-se na forma solúvel. A constituição das diferentes alimentações pode ser consultada no **Capítulo 4.6.3**.

5.2. Carência química de oxigênio total e solúvel do efluente tratado

É possível observar no gráfico da **Figura 10** a evolução do CQO_{total} ao longo dos diferentes ensaios. Na **Figura 11** apresenta-se a evolução do CQO_{solúvel}.

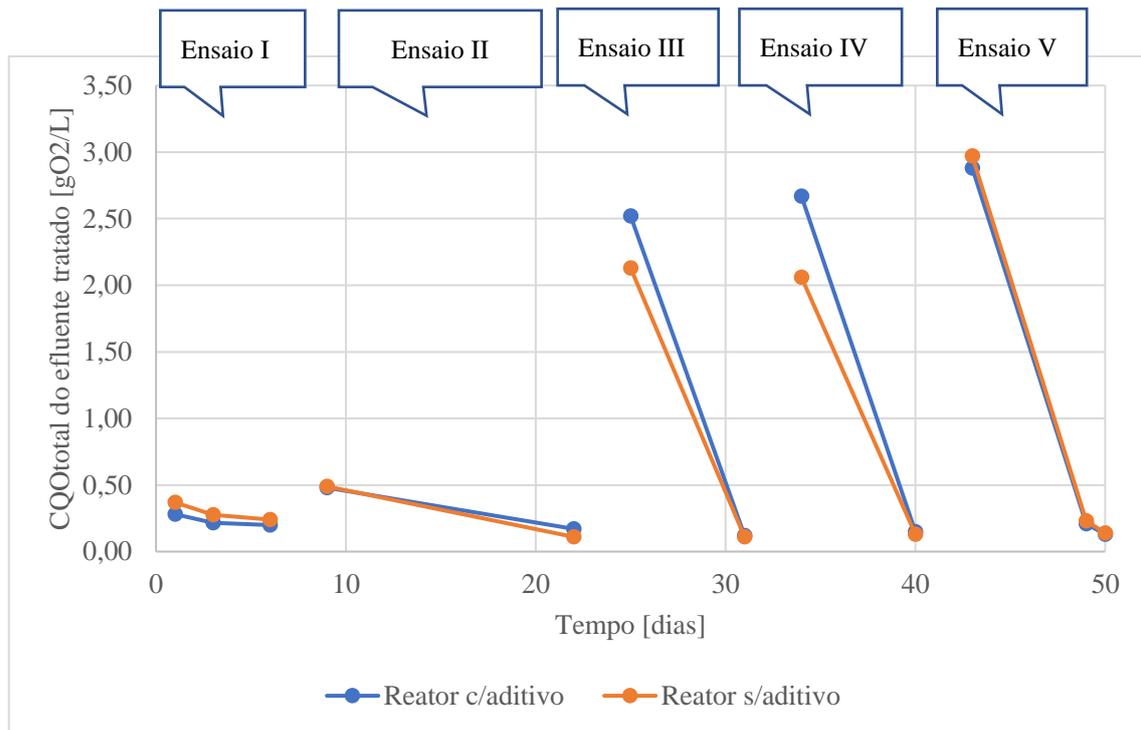


Figura 10 - Perfil da evolução da CQO_{total} do efluente tratado ao longo dos diferentes ensaios.

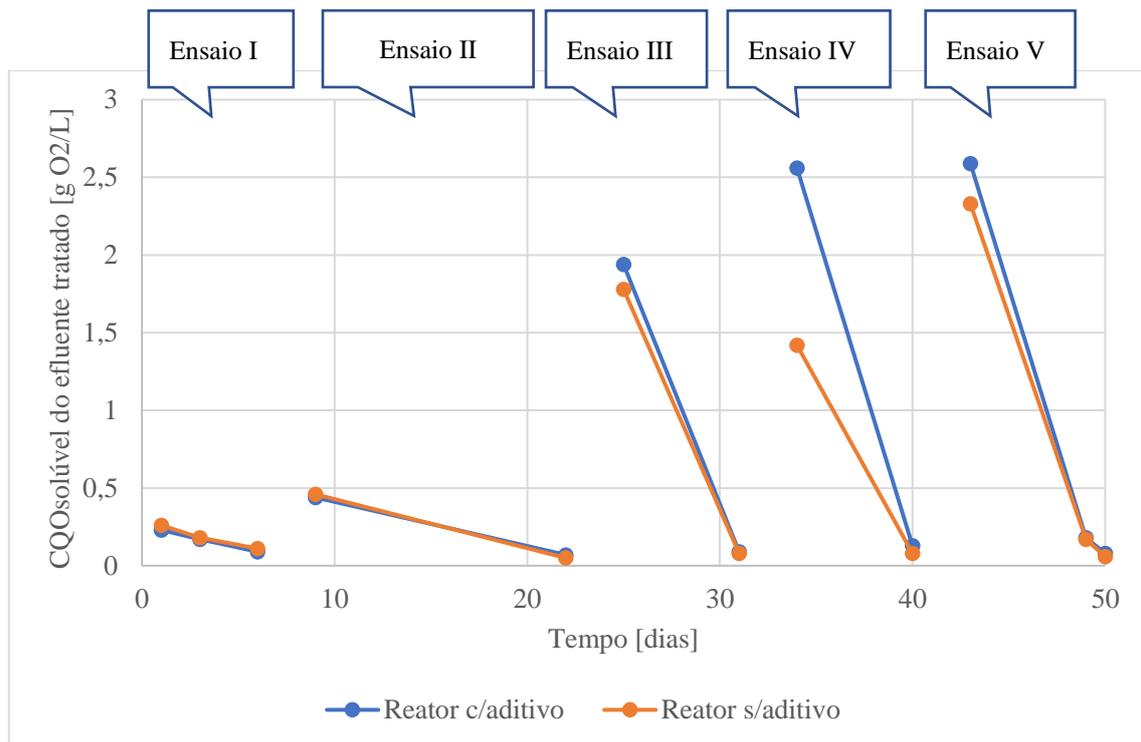


Figura 11 - Perfil da evolução da CQO_{solúvel} do efluente tratado ao longo dos diferentes ensaios.

De forma geral os dois reatores apresentam um perfil de CQO_{total} e CQO_{solúvel} do efluente tratado idênticos entre si. Nos dois primeiros ensaios o desempenho dos reatores foi igual, quer na CQO total quer na CQO solúvel. No entanto, é possível constatar que o reator

de controlo apresenta nos ensaios III, IV e V, concentrações de CQO total e solúvel inferior ao reator com limalha.

No dia da alimentação ocorreu o máximo de concentração de CQO total e solúvel no efluente tratado, e nos dias seguintes uma diminuição gradual.

Comparando os perfis das concentrações do efluente tratado, verifica-se que a CQO total se encontra próxima da CQO solúvel, refletindo a presença de pouca matéria particulada no efluente tratado e, portanto, uma boa capacidade de retenção de sólidos nos reatores.

Nos ensaios III e IV, é possível observar que a maior diferença de valores entre o CQO total e solúvel, ocorre nas primeiras 24 horas de amostragem, sendo que tal pode acontecer devido ao “washout” da biomassa causada pela elevada quantidade de lípidos na alimentação. Após as primeiras 24 horas, a amostra entra em recirculação e os lípidos são hidrolisados.

5.3. pH e condutividade

Na **Tabela 16** apresenta-se os valores de pH e de condutividade na alimentação presentes em cada ensaio.

Tabela 16 - Valores de pH e de condutividade das diferentes alimentações.

Ensaio	Reator com aditivo		Reator sem aditivo	
	pH	Condutividade [mS/cm]	pH	Condutividade [mS/cm]
I	7,61	3,60	7,76	3,71
II	8,39	3,51	8,12	3,43
III	7,83	4,21	7,84	4,17
IV	7,78	4,54	7,89	4,59
V	7,38	4,45	7,4	4,43

Os valores de pH das alimentações dos diferentes ensaios são próximos entre si, havendo apenas um ligeiro aumento no ensaio II, em ambos os reatores. Ambos os reatores apresentam um valor médio de pH de 7,80, tendo como valor mínimo e máximo de 7,38 e 8,39, no reator com aditivo e 7,4 e 8,12 no reator sem aditivo. Pode-se afirmar que os valores

de pH inicial, em ambos os reatores foram próximos dos valores adequados ao tratamento com microrganismos anaeróbios, que é entre 7,0 e 7,5 (Schnürer & Jarvis, 2018).

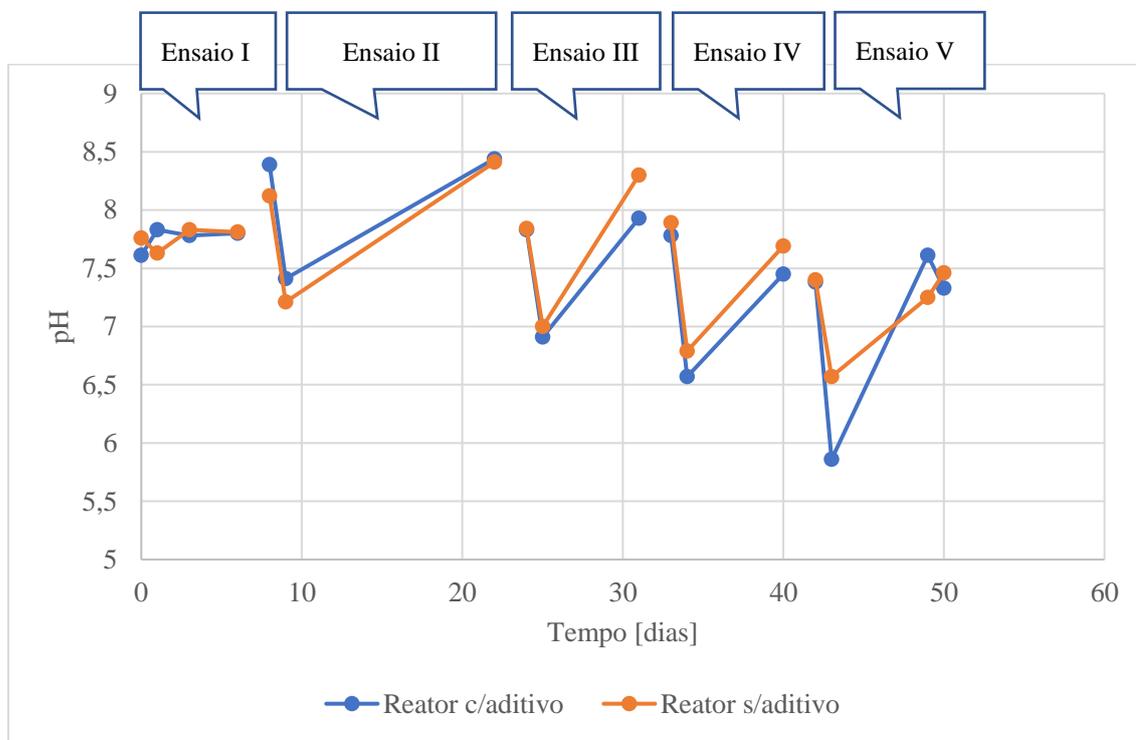


Figura 12 - Gráfico comparativo da evolução de pH nos dois reatores.

A evolução da concentração de pH entre os dois reatores é muito semelhante, sendo que apresenta uma tendência de diminuição nas primeiras 24 horas, recuperando depois o valor de pH inicial. A queda de pH nas primeiras 24 horas de amostragem pode-se explicar pela acumulação de AOV e baixa alcalinidade do soro (Charalambous et al., 2020).

O pH médio em ambos os reatores para os ensaios IV e V, está na gama de valores recomendados para a produção de metano, que varia entre os 6,5 até 7,5. Caso o pH se encontre em valores inferiores, dentro do intervalo de 5 a 6 seria adequado para a produção de AOV (Lettinga et al., 1997).

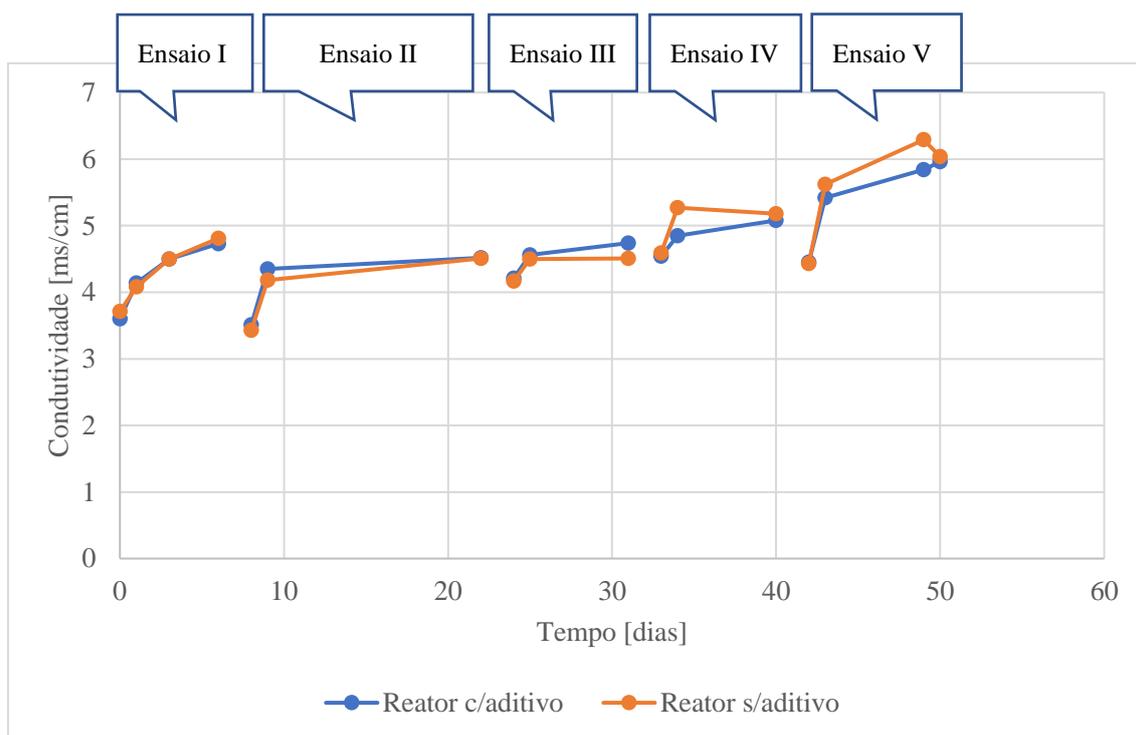


Figura 13 - Gráfico comparativo da evolução da condutividade nos dois reatores.

Analisando o gráfico da **Figura 13**, em termos de condutividade, ambos os reatores reagiram da mesma forma ao aumento da concentração de CQO, uma vez que apresentam curvas similares. Verifica-se um aumento de condutividade nas primeiras 24 horas, seguido de uma estabilização. Este aumento da condutividade pode estar relacionado com a libertação de catiões durante a decomposição do soro de queijo.

O ligeiro aumento de alcalinidade ao longo da amostragem sugere a conversão de ácidos voláteis, que é mais acentuada nas primeiras 24 horas.

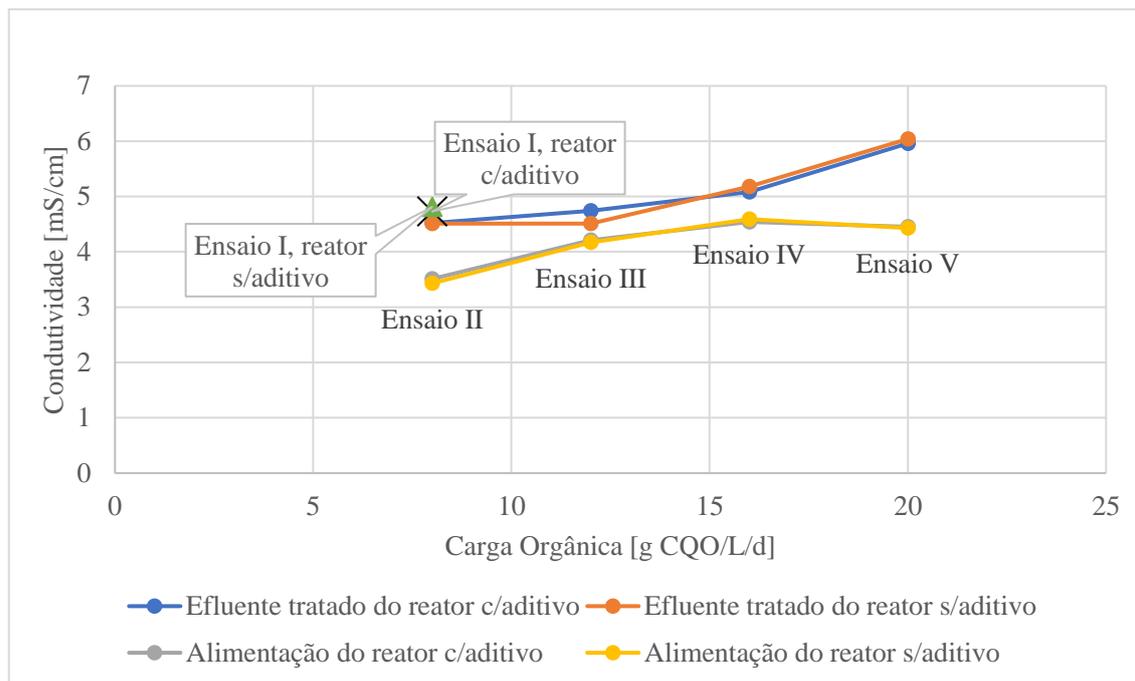


Figura 14 Gráfico da condutividade da alimentação e do efluente final, em função da carga orgânica aplicada

Relativamente à condutividade, esta aumenta com o aumento da carga orgânica, sendo semelhante nos dois reatores, como se apresenta na **Figura 14**. A condutividade final é superior à condutividade da alimentação. No ensaio I considerou-se apenas os valores do efluente final, pois a condutividade da alimentação era idêntica ao ensaio II, uma vez que apresentavam a mesma carga orgânica.

5.4. Sólidos suspensos totais e solúveis

Os gráficos da **Figura 15 e 16** apresentação a evolução das concentrações de SST e SSV, respetivamente, nos diferentes ensaios realizados.

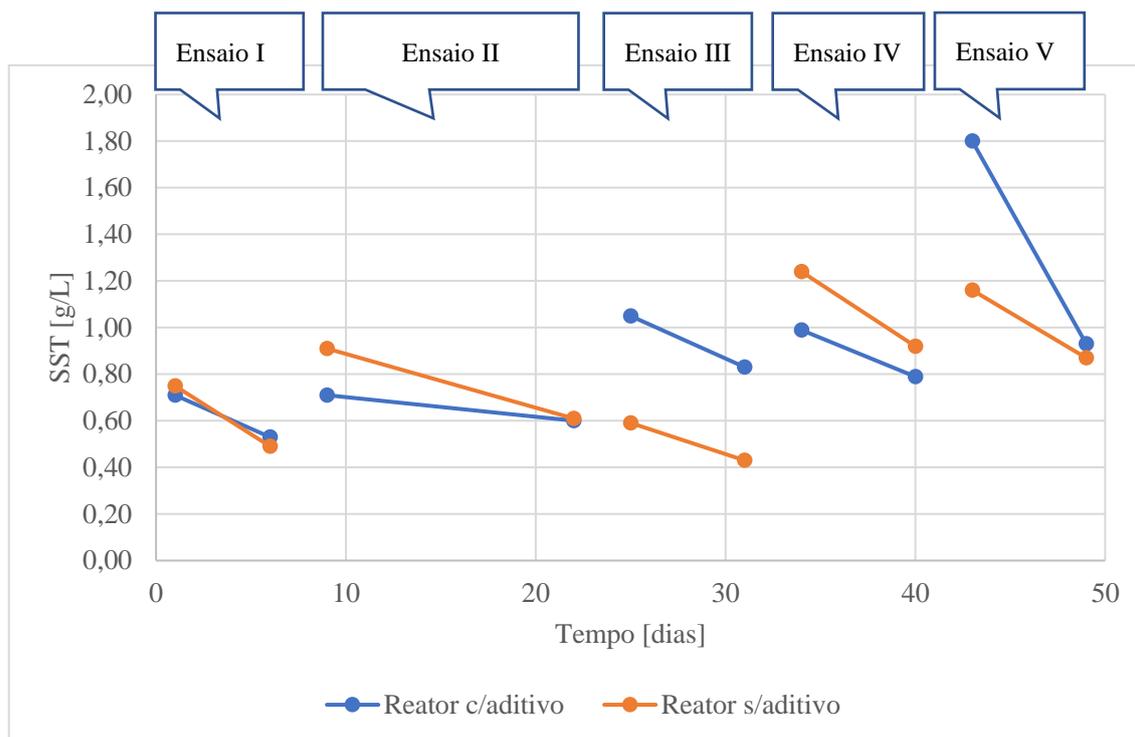


Figura 15 – Gráfico comparativo da evolução dos SST no efluente dos dois reatores.

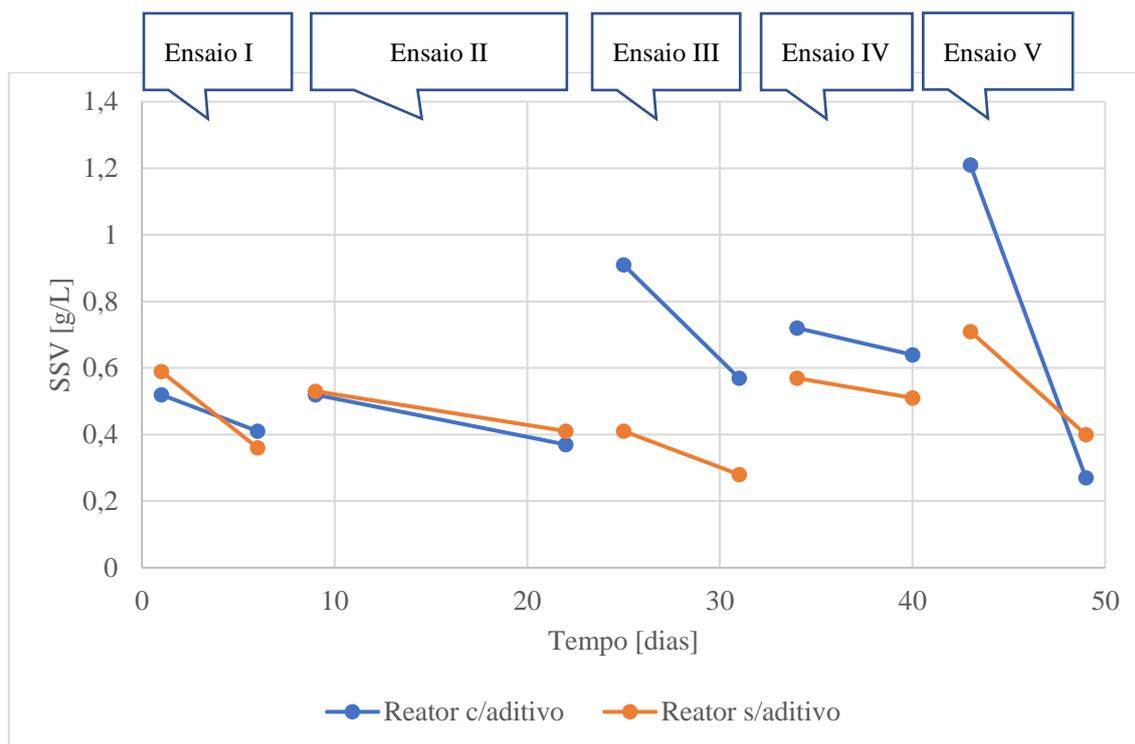


Figura 16 – Gráfico comparativo da evolução dos SSV no efluente dos dois reatores.

Os máximos dos valores de sólidos verificam-se no início da amostragem, ou seja, no tempo zero. Nas primeiras 24 horas ocorre uma redução significativa da concentração de sólidos à saída dos reatores e após este período a concentração diminui continuamente de

forma ligeira. No final de cada ensaio a quantidade de sólidos presentes no efluente tratado é baixa, com valores inferiores a 0,93 g/L, em termos de sólidos totais.

Nos ensaios com maior concentração de CQO na alimentação, o reator com a limalha de ferro, apresentou valores de SST e SSV ligeiramente superiores aos do reator de controlo. A relação de SSV/SST do efluente tratado, em todos os ensaios, é elevada, indicando que grande percentagem dos SST presentes no efluente se devem à presença de biomassa em suspensão. A relação de SSV/SST é superior no efluente tratado em relação à alimentação.

5.5. Ácidos orgânicos voláteis

A evolução da concentração de AOV totais apresenta-se no gráfico da **Figura 19**. Analisando o gráfico, constata-se que a concentração de AOV nos efluentes tratados do reator com aditivo e sem aditivo, varia de 20 a 530 mg acético/L e 8 a 460 mg acético/L, respetivamente. A **Tabela 17** apresenta a concentração de AOV's totais presente nos efluentes tratados.

Tabela 17 – Concentração de AOV's totais no efluente tratado [mg ácido acético/L].

Reator	Média [mg ac/L]	Mínimo [mg ac/L]	Máximo [mg ac/L]
Com aditivo	177,38 ± 153,98	22,94	525,55
Sem aditivo	104,09 ± 147,82	8,84	458,73

No geral ambos os reatores reagiram de forma positiva ao aumento da carga orgânica, sendo que em todos os ensaios se verifica uma redução de AOV após aumento da concentração nas primeiras 24 horas, recuperando o valor inicial. Este aumento da concentração de AOV pode ser explicado pelo facto de que nas primeiras 24 horas o reator está em constante alimentação. O ácido orgânico volátil mais abundante nas amostras foi o ácido acético.

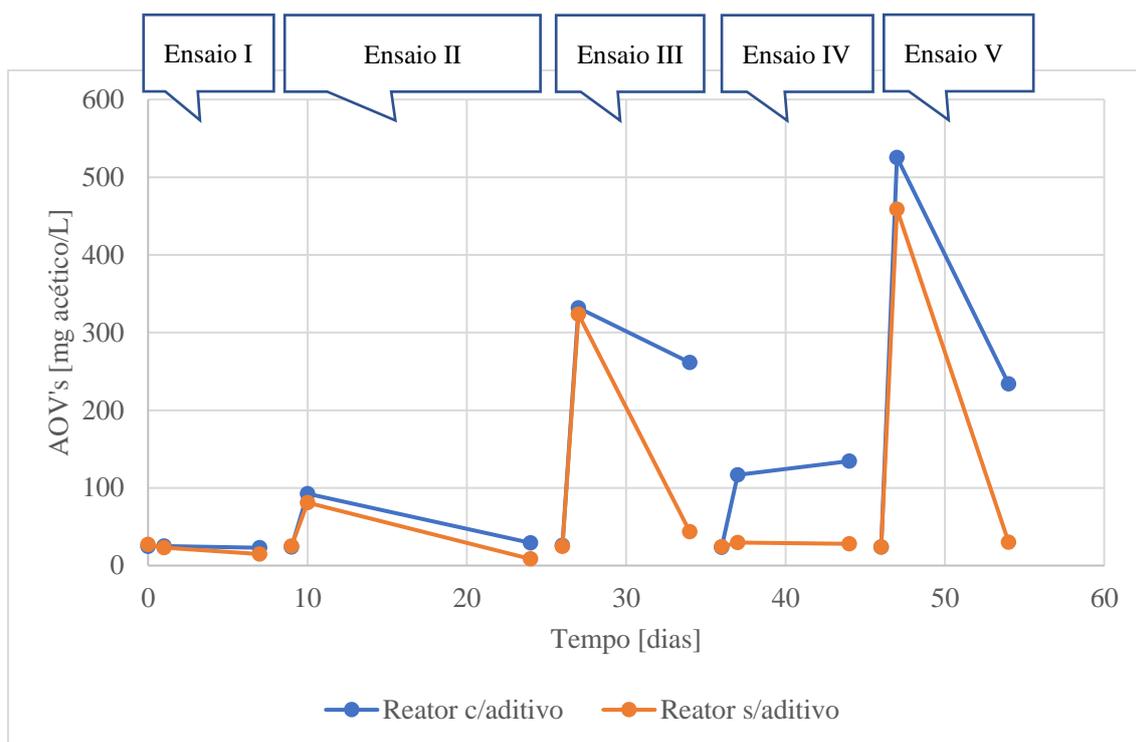


Figura 17 – Gráfico da evolução da concentração de AOV's nos diferentes ensaios.

A concentração total de AOV em todos os ensaios foi inferior ao limiar de toxicidade, 3000 mg ácido acético/L, sendo que o valor máximo obtido foi de 525,55 mg ácido acético/L, no reator com a limalha (Malina & Pohland, 1992).

5.6. Eficiência de remoção de CQO

Na **Figura 18** apresenta-se o perfil de evolução da eficiência de remoção de CQO nos diferentes ensaios realizados.

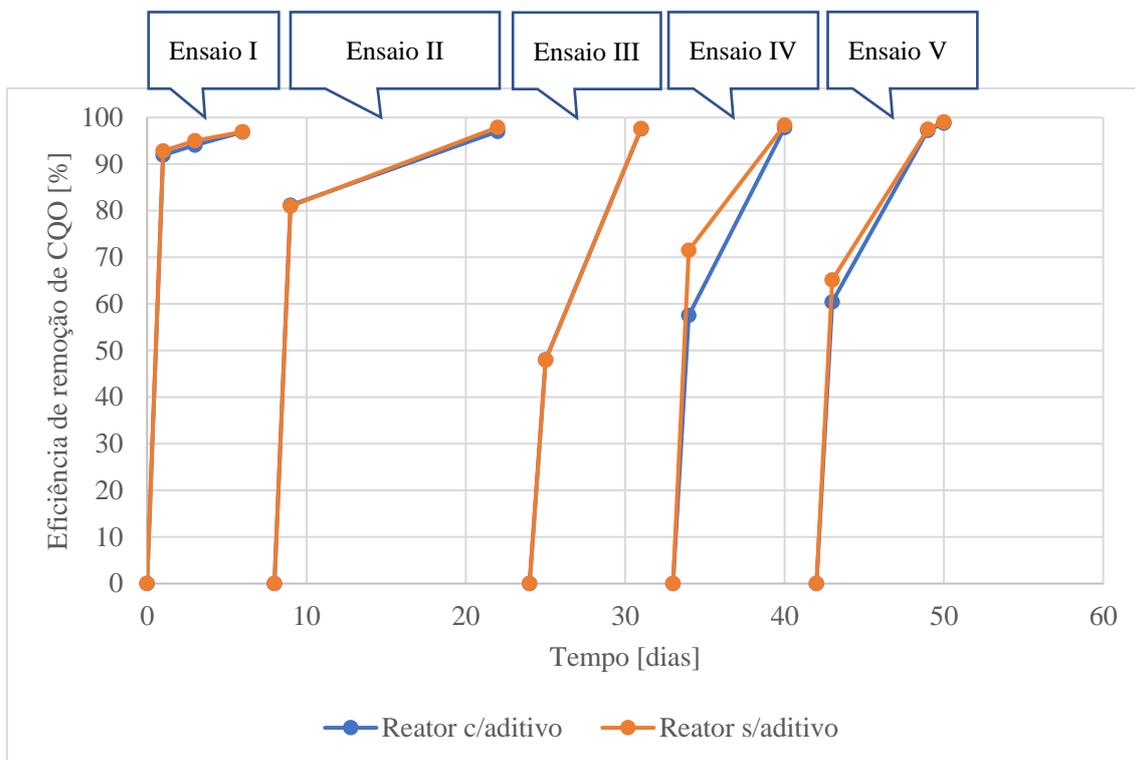


Figura 18 - Perfil da evolução da eficiência de remoção de CQO.

Analisando os perfis representados na **Figura 18** é possível constatar que os dois reatores apresentam evoluções de eficiência muito semelhantes. Os valores finais de remoção alcançados em todos os ensaios foram elevados, com percentagens superiores a 95%. Os valores mais baixos de remoção foram obtidos no ensaio I, com valores de 96,85 e 96,98% para o reator com ferro e reator de controlo, respetivamente. Por outro lado, os valores mais elevados de remoção de CQO, foram obtidos no ensaio V, com percentagens de 98,78 e 99,10 para reator com aditivo e de controlo, respetivamente.

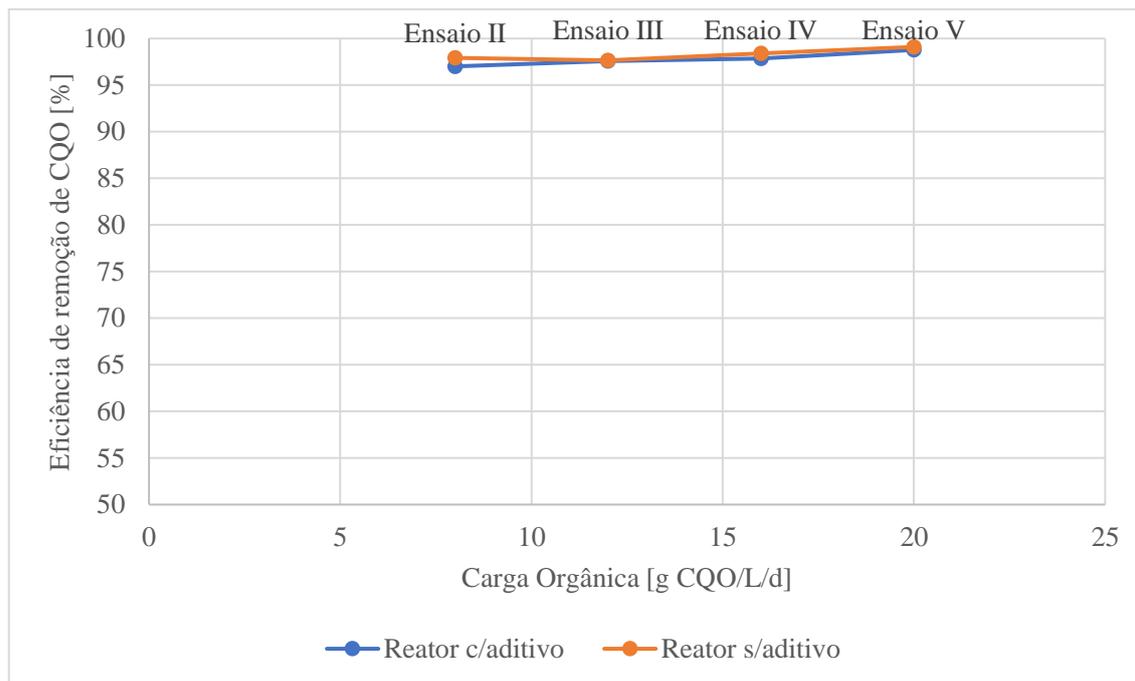


Figura 19 – Gráfico da eficiência de remoção de CQO em função da carga orgânica aplicada.

Analisando o gráfico da **Figura 19** observa-se que a eficiência de remoção de CQO aumenta com o aumento da carga orgânica.

Era esperado que as percentagens de eficiência de remoção de CQO fossem elevadas, uma vez que estes reatores atuavam em modo descontínuo com recirculação, sendo que o efluente passava pelo interior do reator diversas vezes. Os valores de remoção de CQO foram todos superiores a 95%, o que significa que soro de queijo é um substrato facilmente degradável quando aplicadas cargas orgânicas não muito elevadas, o que sugere a completa fermentação do soro (Diamantis et al., 2014).

5.7. Metanização

5.7.1. Produção de metano

A produção diária e cumulativa de metano nos diferentes ensaios está representada nos gráficos das **Figuras 20 e 21**, respetivamente.

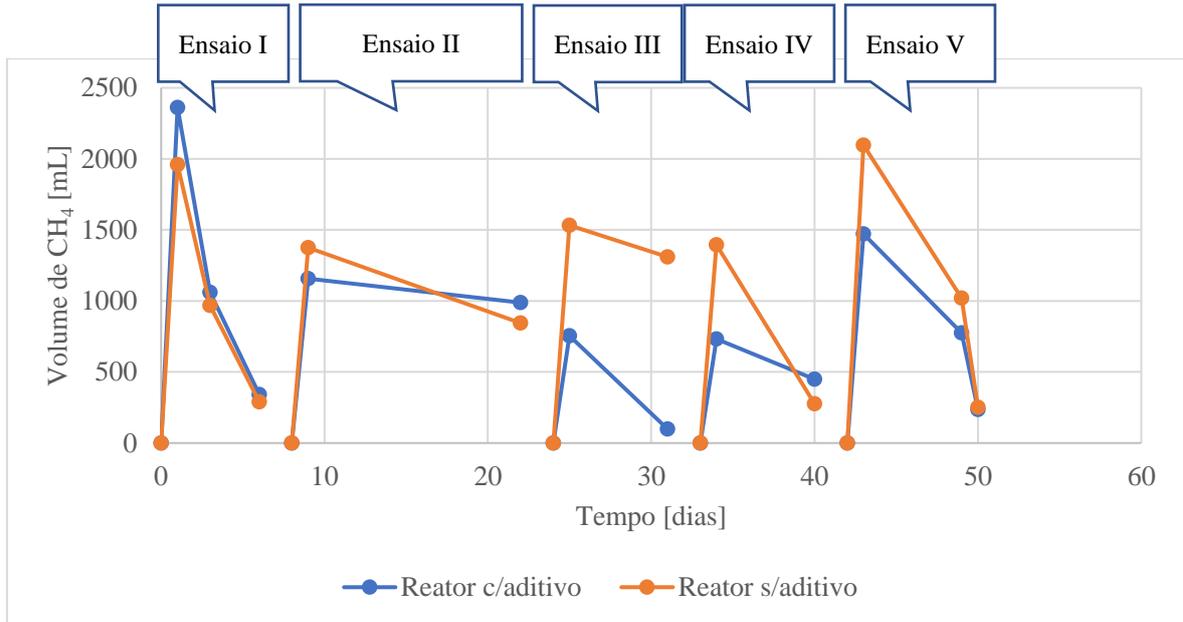


Figura 20 – Gráfico de perfil do volume diário de metano produzido pelos reatores UASB.

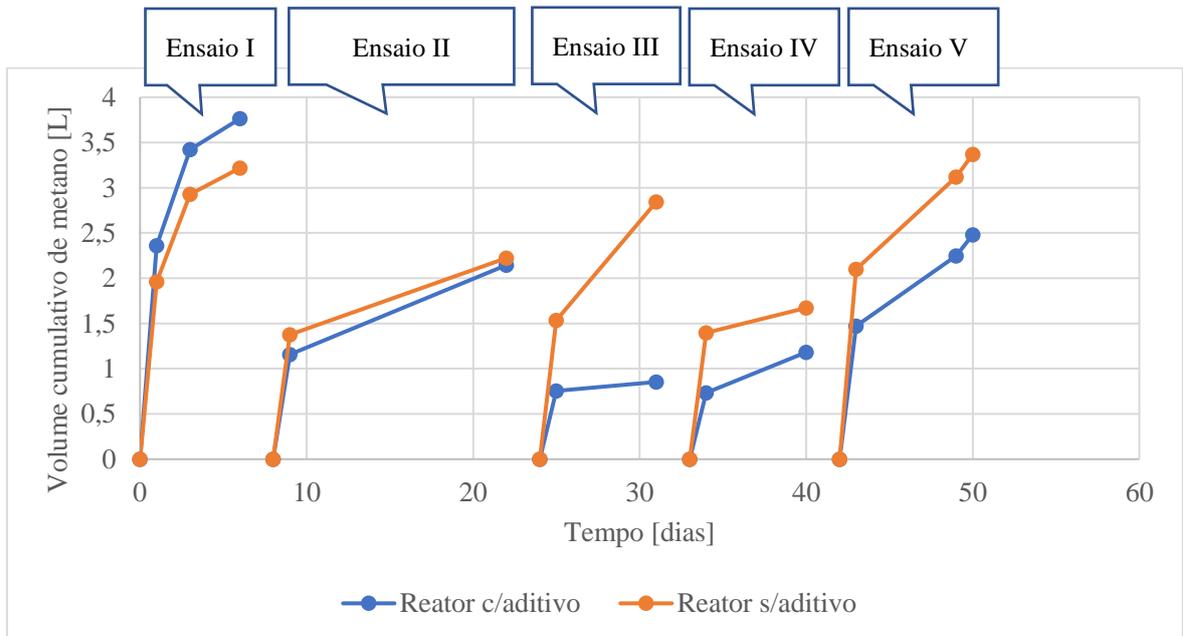


Figura 21 – Gráfico de perfil do volume cumulativo de metano produzido pelos reatores UASB.

Da análise da **Figura 20** pode-se constatar que o pico de produção de metano acontece nas 24 horas seguintes ao início do ensaio, sendo que depois ocorre uma diminuição na produção. Ambos os reatores apresentam um comportamento idêntico, contudo, o reator de controlo apresenta maiores valores de produção nos ensaios III, IV e V do que o reator com ferro. Estes dados contrariam estudos feitos por outros autores que obtiveram melhorias na produção de metano com a adição de ferro, como Ariunbaatar et al (2016), obtendo uma melhoria de 39,2 % na produção de metano (Ariunbaatar, Esposito, Yeh, & Lens, 2016). Estes dados sugerem, que durante a paragem dos reatores, entre o ensaio I e II a presença da limalha prejudicou a produção de metano.

No ensaio V, a produção de metano não atingiu um patamar de estabilização, indicando um maior potencial de produção de metano e de recuperação de metanogénese. É também reforçada a ideia de que os reatores ainda se encontravam em fase de adaptação ao soro.

No gráfico da **Figura 21** constata-se uma semelhança nas curvas cumulativas de produção de CH₄, sendo que no ensaio I ocorre maior produção de metano no reator a operar com a limalha, enquanto que nos restantes ensaios a maior produção total se verifica no reator de controlo.

A maior produção de metano ocorreu no reator a operar com limalha, no ensaio I com 3,76 L de CH₄, significando um aumento de 16,91% na produção de metano, em comparação com o reator de controlo. Por sua vez, o reator de controlo atingiu maiores valores de produção no ensaio V com 3,37 L de CH₄.

Nos ensaios III, IV e V, o reator com a limalha de ferro, apresenta uma redução de 69,93%, 29,33% e 26,36% na produção de metano, comparativamente com o reator de controlo. L. Zhang et. al (2009), apresentou valores de inibição na produção de metano entre 52 e 80%, sendo que a causa para tal inibição poderia ser a competição entre os microrganismos produtores de metano e as bactérias redutoras de Fe(III) e o aumento do potencial de redução no reator (Van Bodegom et al., 2004; L. Zhang et al., 2009).

5.7.2. Percentagem de CH₄ no biogás

A evolução de percentagem média de metano presente no biogás encontra-se representada no gráfico da **Figura 22**.

Verifica-se que nos ensaios I e II, ocorre um aumento constante da percentagem de metano nos dois reatores. Nos ensaios III, IV e V, após as 24 horas iniciais ocorre uma diminuição da percentagem de metano.

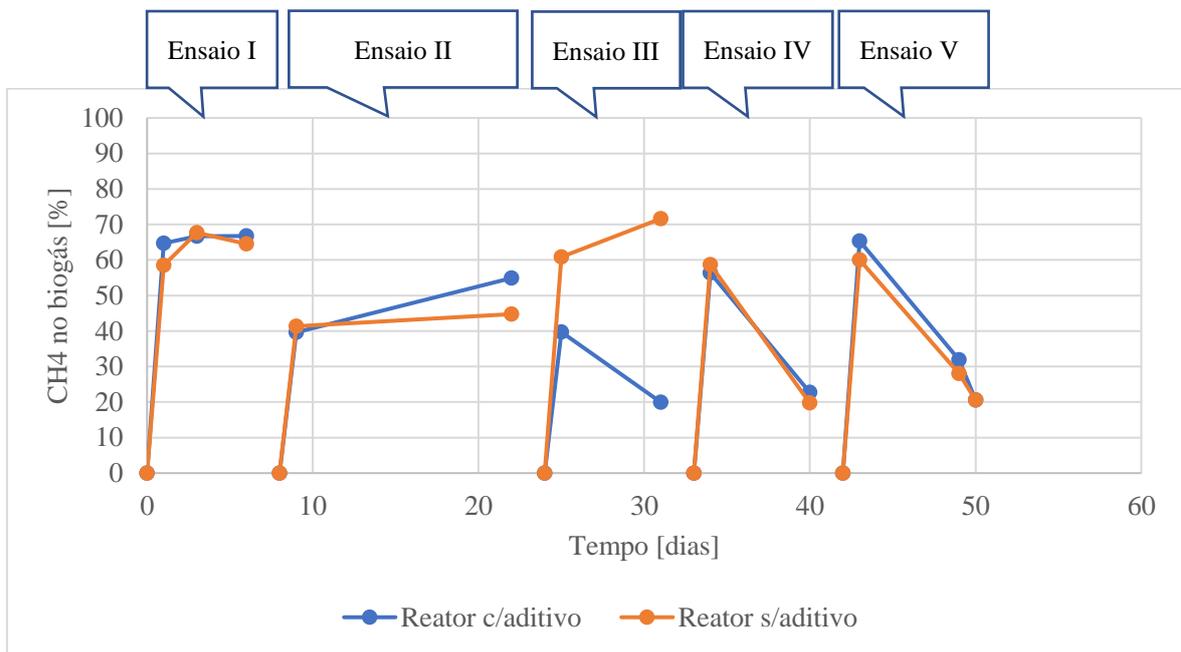


Figura 22 - Gráfico da evolução de percentagem de metano nos reatores UASB.

5.7.3. Eficiência de metanização

Apresenta-se no gráfico da **Figura 23** os valores da eficiência de metanização da CQO dos ensaios em reatores UASB.

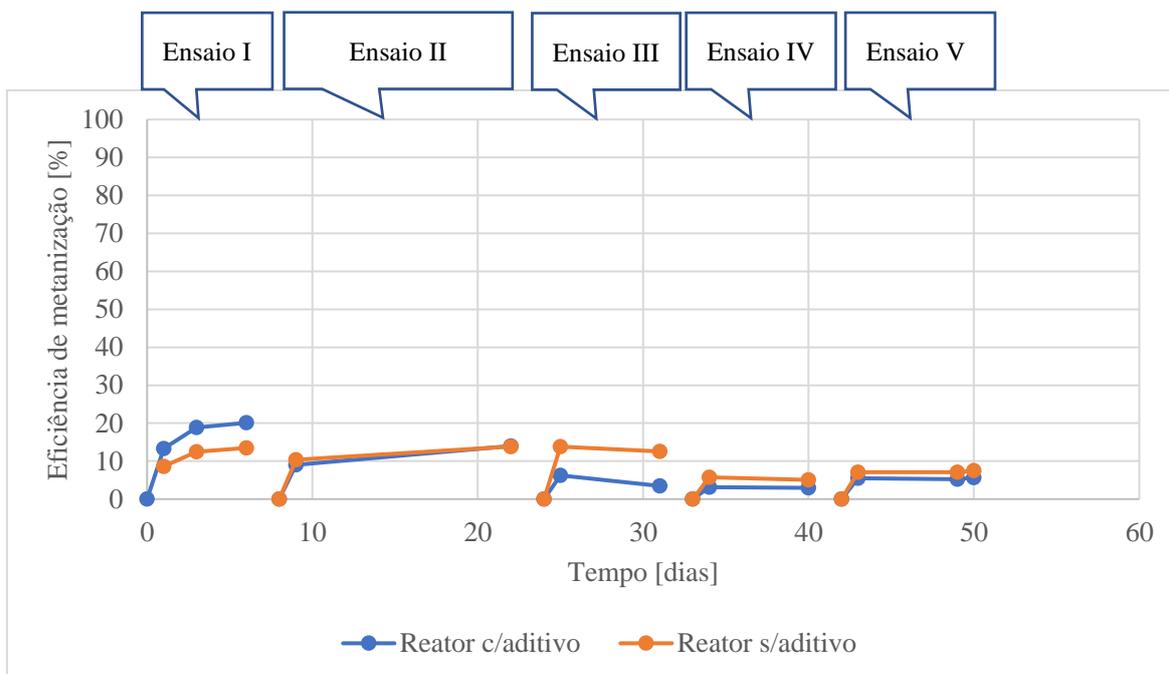


Figura 23 – Gráfico do perfil da evolução da eficiência de metanização dos ensaios nos reatores UASB.

Os perfis de evolução da eficiência de metanização são semelhantes nos dois reatores, sendo que no ensaio I a eficiência é superior no reator com limalha de ferro, com valor de 20,10%, enquanto que nos restantes é superior no reator de controlo com valores de 13,85%, 12,58%, 5,03% e 7,51% para os ensaios II, III, IV e V, respetivamente. O ensaio I sugere que a limalha teve influência positiva na metanização. No entanto estes valores podem ser considerados baixos dado que significa que, no ensaio com maior eficiência, apenas ocorreu a transformação de 20,10% do CQO passível de se transformar em biogás. Estes baixos valores podem sugerir a bioacumulação ou, fugas de gás no reator.

Na **Figura 24** apresenta-se o gráfico da influência da carga orgânica na eficiência final de metanização.

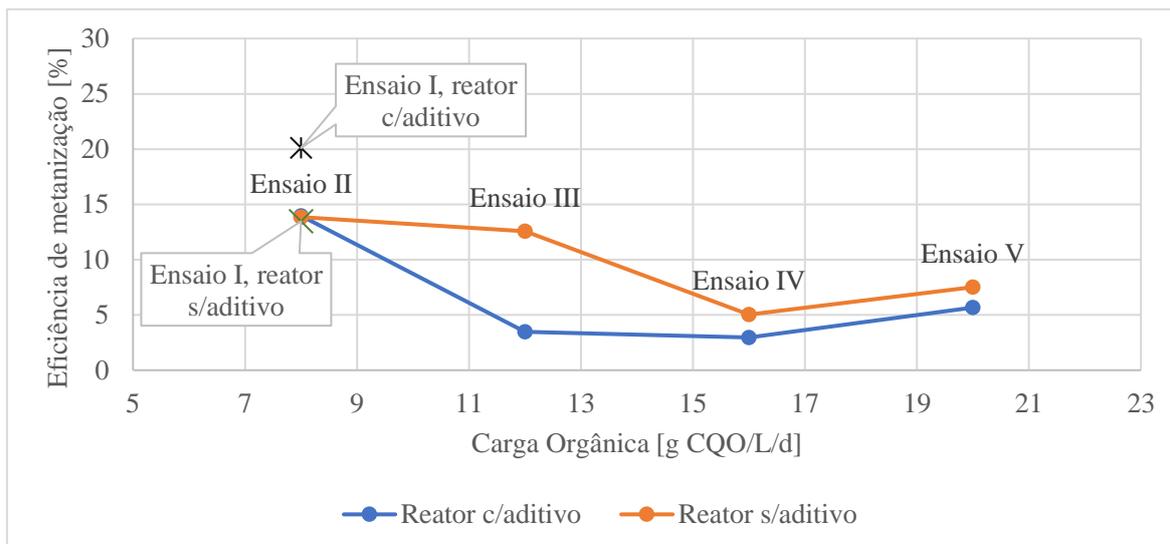


Figura 24 – Gráfico da eficiência final de metanização em função da carga orgânica aplicada.

Na análise do gráfico da **Figura 24**, o ensaio I demonstra uma melhoria na eficiência de metanização para o reator com a limalha. Nos ensaios após paragem, não se verifica a melhoria perante a adição da limalha.

Considerando o gráfico da **Figura 24** e descartando o ensaio III para o reator com aditivo, que poderá representar erros laboratoriais, verifica-se um choque entre o ensaio II e III, dado o aumento da carga orgânica. No entanto, entre os ensaios III e IV ocorre uma estabilização e posterior adaptação à carga orgânica, entre os ensaios IV e V, sugerindo a possibilidade de adaptação a cargas orgânicas elevadas.

É visível que o ferro estando demasiado tempo no interior do reator não apresenta efeitos positivos na metanização, uma vez que o reator com aditivo e o reator de controlo, demonstram valores muito semelhantes.

6. Conclusões e sugestões de trabalho futuro

Com o objetivo de estudar a viabilidade da degradação anaeróbia de soro de queijo com elevada salinidade em reatores UASB, realizaram-se cinco ensaios com cargas orgânicas crescentes com e sem a presença de limalha de ferro

A maior remoção de CQO foi obtida no ensaio com maior carga orgânica, no reator de controlo (sem limalha), com um valor de 99,10%. Foi possível verificar em ambos os reatores que a eficiência de remoção aumentou com a carga orgânica.

No entanto, a eficiência de metanização em todos os ensaios apresentou valores relativamente baixos, sendo que a maior percentagem de metanização ocorreu no ensaio I, para o reator com a limalha de ferro com um valor de 20,10%. A utilização de ferro para a metanização do soro de queijo é um fator benéfico, contudo, não pode ser deixado no interior do reator por longos períodos. É possível concluir que com o aumento da carga orgânica há uma diminuição inicial da metanização, verificando-se uma recuperação para a carga mais elevada, provavelmente devido à adaptação da biomassa ao substrato utilizado.

A diferença entre os valores de eficiência de remoção de CQO e de eficiência de metanização pode estar relacionada com fenómenos de adsorção de substrato na superfície das partículas de biomassa no interior do reator.

Relativamente à influência da limalha de ferro na eficiência de metanização, os resultados não foram os esperados, uma vez que em ensaios com maior carga orgânica e, após longa paragem dos reatores, o reator com limalha de ferro não apresentou melhorias quer na produção de biogás quer na eficiência de metanização.

Através do estudo realizado não é possível determinar as condições ótimas para uma máxima eficiência de metanização e remoção de CQO. No entanto, pode-se concluir que os reatores UASB responderam de forma positiva a um aumento gradual de 50% da carga orgânica, até uma carga orgânica máxima de 20 gCQO/L/d.

No futuro poderá ser estudado a influência de outro aditivo, como o biochar. A realização de amostragens mais frequentes seria algo favorável, pois poderiam ajudar na compreensão da queda de alguns valores, como o pH. A utilização de ensaios mais longos é

algo importante, pois permitirá atingir o patamar de produção de metano. As cargas orgânicas poderiam ser repetidas, ou até mesmo aumentadas, no entanto os ensaios deveriam ser repetidos sem a paragem dos reatores, com o intuito de promover a adaptação da biomassa e o aumento da eficiência de metanização. Também seria interessante realizar ensaios repetidos, com a mesma carga orgânica, para avaliar o efeito da adaptação da biomassa ao substrato.

Referências bibliográficas

- Antonopoulou, G., Stamatelatou, K., Venetsaneas, N., Kornaros, M., & Lyberatos, G. (2008). Biohydrogen and methane production from cheese whey in a two-stage anaerobic process. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 47(15), 5227–5233. <https://doi.org/10.1021/ie071622x>
- APHA. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association.
- Ariunbaatar, J., Esposito, G., Yeh, D. H., & Lens, P. N. L. (2016). Enhanced anaerobic digestion of food waste by supplementing trace elements: Role of selenium (vi) and iron (ii). *Frontiers in Environmental Science*, 4(FEB), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00008>
- Athanasopoulou, E., Tombrou, M., Pandis, S. N., & Russell, A. G. (2008). and Physics The role of sea-salt emissions and heterogeneous chemistry in the air quality of polluted coastal areas, 5755–5769.
- Azbar, N., Çetinkaya Dokgöz, F. T., Keskin, T., Korkmaz, K. S., & Syed, H. M. (2009). Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(17), 7441–7447. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.04.032>
- Bachmann, R. T., Becerra, M., Cerdn, E., Gonzlez-Siso, I., Hernandez, J. E., & Johnson, A. C. (2008). *Biogas production from cheese whey: past, present and future. Advances in cheese whey utilization* (Vol. 661).
- Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., ... Vavilin, V. A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 45(10), 65–73. <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0292>
- Bedage, M. S. (2017). Cheese whey treatment by hybrid UASB : effect of organic loading and alkalinity, 2017, 10–13.
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the Total Environment*, 445–446, 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>
- Charalambous, P., Shin, J., Shin, S. G., & Vyrides, I. (2020). Anaerobic digestion of

- industrial dairy wastewater and cheese whey: Performance of internal circulation bioreactor and laboratory batch test at pH 5-6. *Renewable Energy*, 147, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.08.091>
- Chatzipaschali, A. A., & Stamatias, A. G. (2012). Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: Current status and prospects. *Energies*, 5(9), 3492–3525. <https://doi.org/10.3390/en5093492>
- Chen, G. Q., Talebi, S., Gras, S. L., Weeks, M., & Kentish, S. E. (2018). A review of salty waste stream management in the Australian dairy industry. *Journal of Environmental Management*, 224(May), 406–413. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.056>
- Chen, Ye, Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- Chen, Yinguang, Luo, J., Yan, Y., & Feng, L. (2013). Enhanced production of short-chain fatty acid by co-fermentation of waste activated sludge and kitchen waste under alkaline conditions and its application to microbial fuel cells. *Applied Energy*, 102, 1197–1204. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.06.056>
- Cherosky, P., & Li, Y. (2013). Hydrogen sulfide removal from biogas by bio-based iron sponge. *Biosystems Engineering*, 114(1), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2012.10.010>
- Coelho, C. (2005). Caracterização de uma empresa produtora de Queijo Serra da Estrela.
- De Wit, J. N. (2001). *Lecturer 's Handbook on whey and whey products*.
- Demirel, B., & 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), 173–190. <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9131-1>
- Demirel, B., Yenigun, O., & Onay, T. T. (2005). Anaerobic treatment of dairy wastewaters: A review. *Process Biochemistry*, 40(8), 2583–2595. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.12.015>
- Diamantis, V., & Aivasidis, A. (2018). Performance of an ECSB reactor for high-rate anaerobic treatment of cheese industry wastewater: Effect of pre-acidification on process efficiency and calcium precipitation. *Water Science and Technology*, 78(9), 1893–1900. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.406>

- Diamantis, V., Kapagiannidis, A. G., Ntougias, S., Tataki, V., Melidis, P., & Aivasidis, A. (2014). Two-stage CSTR-UASB digestion enables superior and alkali addition-free cheese whey treatment. *Biochemical Engineering Journal*, 84, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.01.001>
- Durham, R. J., Hourigan, J. A., & Sydney, W. (2009). *Waste management and co-product recovery in dairy processing. Handbook of waste management and co-product recovery in food processing.* Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845692520.4.332>
- Ebrahimi, A., Najafpour, G. D., Mohammadi, M., & Hashemiyeh, B. (2010). Biological treatment of whey in an UASFF bioreactor followed a three-stage RBC. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 16(2), 175–182. <https://doi.org/10.2298/CICEQ100315025E>
- Ergu, T. H., Tezel, U., Gu, E., & Demirer, G. N. (2001). Anaerobic Biotransformation and Methane Generation Potential of. *Waste Management*, 21, 643–650.
- EUROSAT. (2020). Statistics | Eurostat. Retrieved December 22, 2020, from <https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/tag00040/default/table?lang=en>
- Farizoglu, B., Keskinler, B., Yildiz, E., & Nuhoglu, A. (2007). Simultaneous removal of C, N, P from cheese whey by jet loop membrane bioreactor (JLMBR). *Journal of Hazardous Materials*, 146(1–2), 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.051>
- Ferchichi, M., Crabbe, E., Gil, G. H., Hintz, W., & Almadidy, A. (2005). Influence of initial pH on hydrogen production from cheese whey. *Journal of Biotechnology*, 120(4), 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.05.017>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2016). Fundamentals of cheese science, second edition. *Fundamentals of Cheese Science, Second Edition*, 1–799. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Guinee, T. P., ... McSweeney, P. L. H. (2017). *Pathogens in Cheese and Foodborne Illnesses. Fundamentals of Cheese Science.* https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_19
- G Gernigon, P Schuck, and R. J. (2016). Demineralization. *Encyclopedia of Earth Sciences Series*, 438–447. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8801-4_301
- Gannoun, H., Khelifi, E., Bouallagui, H., Touhami, Y., & Hamdi, M. (2008). Ecological

- clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter. *Bioresource Technology*, 99(14), 6105–6111. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.037>
- Gavala, H. N., Kopsinis, H., Skiadas, I. V., Stamatelatou, K., & Lyberatos, G. (1999). Treatment of dairy wastewater using an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, 73(1), 59–63. <https://doi.org/10.1006/jaer.1998.0391>
- Ghaly, A. E. (1996). A comparative study of anaerobic digestion of acid cheese whey and dairy manure in a two-stage reactor. *Bioresource Technology*, 58(1), 61–72. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(96\)00105-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(96)00105-8)
- Ghaly, A. E., & Kamal, M. A. (2004). Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction. *Water Research*, 38(3), 631–644. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.019>
- Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*, 21(5–6), 411–490. <https://doi.org/10.1080/10643389109388424>
- Giyang Oh, L. Z. and D. J. (2008). Osmoprotectants enhance methane production from the anaerobic digestion of food wastes containing a high content of salt. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 83(May), 1163–1169. <https://doi.org/10.1002/jctb>
- GPP. (2007). Leite e Lacticínios, 39.
- Hassan, A. N., & Nelson, B. K. (2012). Invited review: Anaerobic fermentation of dairy food wastewater. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6188–6203. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5732>
- INE. (2020). Instituto Nacional de Estatística - Produção de queijo por tipo de queijo. Retrieved December 1, 2020, from https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000920&contexto=bd&selTab=tab2
- INETI. (2001). GUIA TÉCNICO - INDÚSTRIA DE LACTICÍNIOS.
- Janczukowicz, W., Zieliński, M., & Debowski, M. (2008). Biodegradability evaluation of dairy effluents originated in selected sections of dairy production. *Bioresource Technology*, 99(10), 4199–4205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.077>

- Johnson, M. E. (2017). A 100-Year Review: Cheese production and quality. *Journal of Dairy Science*, *100*(12), 9952–9965. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12979>
- Kalyuzhnyi, S. V., Perez Martinez, E., & Rodriguez Martinez, J. (1997). Anaerobic treatment of high-strength cheese-whey wastewaters in laboratory and pilot UASB-reactors. *Bioresource Technology*, *60*(1), 59–65. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(96\)00176-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(96)00176-9)
- Karri, S., Sierra-Alvarez, R., & Field, J. A. (2005). Zero valent iron as an electron-donor for methanogenesis and sulfate reduction in anaerobic sludge. *Biotechnology and Bioengineering*, *92*(7), 810–819. <https://doi.org/10.1002/bit.20623>
- Kavacik, B., & Topaloglu, B. (2010). Biogas production from co-digestion of a mixture of cheese whey and dairy manure. *Biomass and Bioenergy*, *34*(9), 1321–1329. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.04.006>
- Ke, S., Shi, Z., & Fang, H. H. P. (2005). Applications of two-phase anaerobic degradation in industrial wastewater treatment. *International Journal of Environment and Pollution*, *23*(1), 65–80. <https://doi.org/10.1504/IJEP.2005.006396>
- Koster, I. W., & Lettinga, G. (1988). Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations. *Biological Wastes*, *25*(1), 51–59. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(88\)90127-9](https://doi.org/10.1016/0269-7483(88)90127-9)
- Kushwaha, J. P., Chandra Srivastava, V., & Mall, I. D. (2010). Treatment of dairy wastewater by inorganic coagulants: Parametric and disposal studies. *Water Research*, *44*(20), 5867–5874. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.001>
- Lee, C., Kim, J., & Hwang, S. (2006). Optimization of adenosine 5'-triphosphate extraction for the measurement of acidogenic biomass utilizing whey wastewater. *Biodegradation*, *17*(4), 347–355. <https://doi.org/10.1007/s10532-005-9005-y>
- Lettinga, G., Field, J., Van Lier, J., Zeeman, G., & Hulshoff Pol, L. W. (1997). Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future. *Water Science and Technology*, *35*(10), 5–12. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00222-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00222-9)
- Liu, Y., Zhang, Y., Quan, X., Chen, S., & Zhao, H. (2010). Applying an electric field in a built-in zero valent iron e Anaerobic reactor for enhancement of sludge granulation. *Water Research*, *45*(3), 1258–1266. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.002>
- Liu, Y., Zhang, Y., Quan, X., Li, Y., Zhao, Z., Meng, X., & Chen, S. (2012). Optimization of anaerobic acidogenesis by adding Fe₀ powder to enhance anaerobic wastewater

- treatment. *Chemical Engineering Journal*, 192, 179–185.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.03.044>
- Lovley, D. R., & Phillips, E. J. P. (1987). *Competitive Mechanisms for Inhibition of Sulfate Reduction and Methane Production in the Zone of Ferric Iron Reduction in Sediments* Downloaded from. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 53). Retrieved from <http://aem.asm.org/>
- Macedo, A. (2010). Fraccionamento de Lactossoro de Ovelha por Tecnologias de Membranas e Estudo das Possíveis Utilizações dos Concentrados Obtidos, 450.
- Maganha, M. F. B. (2006). *Guia técnico ambiental da indústria de produtos lácteos*.
- Malina, J. F., & Pohland, F. G. (1992). *Desing of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Retrieved from <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Marwaha, S. S., & Kennedy, J. F. (1988). Whey-pollution problem and potential utilization. *International Journal of Food Science & Technology*, 23(4), 323–336.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb00586.x>
- Mata-Alvarez, J., Macé, S., & Llabrés, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 74(1), 3–16. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00023-7)
- O’Flaherty, V., Collins, G., & Mahony, T. (2006). The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 5(1), 39–55.
<https://doi.org/10.1007/s11157-005-5478-8>
- OECD/FAO. (2020). World dairy projections: Milk, butter and cheese.
<https://doi.org/10.1787/dc3062e1-en>
- Panesar, P. S., & Kennedy, J. F. (2012). Biotechnological approaches for the value addition of whey. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(4), 327–348.
<https://doi.org/10.3109/07388551.2011.640624>
- Perle, M., Kimchie, S., & Shelef, G. (1995). Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater. *Water Research*, 29(6), 1549–1554.
[https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00248-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00248-6)
- Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management : A review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48–68.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.05.018>

- Rajeshwari, K. V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., & Kishore, V. V. N. (2000). State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 4(2), 135–156. [https://doi.org/10.1016/S1364-0321\(99\)00014-3](https://doi.org/10.1016/S1364-0321(99)00014-3)
- Ribeiro, R. (2015). *O Queijo da Serra da Estrela – Uma questão de Autenticidade*.
- Rinzema, A., van Lier, J., & Lettinga, G. (1988). Sodium inhibition of acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, 10(1), 24–32. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(88\)90094-4](https://doi.org/10.1016/0141-0229(88)90094-4)
- Romero-Güiza, M. S., Vila, J., Mata-Alvarez, J., Chimenos, J. M., & Astals, S. (2016). The role of additives on anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 1486–1499. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.094>
- Ryhiner, G. B., Heinzle, E., & Dunn, I. J. (1993). Modeling and Simulation of Anaerobic Wastewater Treatment and Its Application to Control Design: Case Whey. *Biotechnology Progress*, 9(3), 332–343. <https://doi.org/10.1021/bp00021a013>
- Saddoud, A., Hassaïri, I., & Sayadi, S. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresource Technology*, 98(11), 2102–2108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.013>
- Schnürer, A., & Jarvis, A. (2018). *Microbiology of the biogas process Anna Schnürer. Biotechnology for Biofuels* (Vol. 5). Retrieved from <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjUhuL-wf3aAhVKICwKHY8tCwQQFggUAAA&url=https%3A%2F%2Fpdfs.semanticscholar.org%2F75ff%2F5e5d9aec893cb10d5e146bb669cf7175d53c.pdf&usg=AOvVaw1kTZGDDVNa6CshGEyEF6Bt>
- Siles, J. A., Martín, M. A., Chica, A., & Borja, R. (2008). Kinetic modelling of the anaerobic digestion of wastewater derived from the pressing of orange rind produced in orange juice manufacturing. *Chemical Engineering Journal*, 140(1–3), 145–156. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.09.026>
- Siso, M. I. G. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review, 57, 1–11.
- Van Bodegom, P. M., Scholten, J. C. M., & Stams, A. J. M. (2004). Direct inhibition of methanogenesis by ferric iron. *FEMS Microbiology Ecology*, 49(2), 261–268.

<https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.03.017>

- Van den Berg, L. (1982). Anaerobic digestion of wastes. *Conservation and Recycling*, 5(1), 5–14. [https://doi.org/10.1016/0361-3658\(82\)90028-5](https://doi.org/10.1016/0361-3658(82)90028-5)
- Van Langerak, E. P. A., Gonzalez-Gil, G., Van Aelst, A., Van Lier, J. B., Hamelers, H. V. M., & Lettinga, G. (1998). Effects of high calcium concentrations on the development of methanogenic sludge in upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactors. *Water Research*, 32(4), 1255–1263. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00335-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00335-7)
- van Lier, J. B., van der Zee, F. P., Frijters, C. T. M. J., & Ersahin, M. E. (2015). Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14(4), 681–702. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9375-5>
- Vidal, G., Carvalho, A., Méndez, R., & Lema, J. M. (2000). Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. *Bioresource Technology*, 74(3), 231–239. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00015-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00015-8)
- Vyrides, I., & Stuckey, D. C. (2017). Compatible solute addition to biological systems treating waste/wastewater to counteract osmotic and other environmental stresses: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(7), 865–879. <https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1266460>
- Wu, Q. L., Guo, W. Q., Zheng, H. S., Luo, H. C., Feng, X. C., Yin, R. L., & Ren, N. Q. (2016). Enhancement of volatile fatty acid production by co-fermentation of food waste and excess sludge without pH control: The mechanism and microbial community analyses. *Bioresource Technology*, 216, 653–660. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.006>
- Yang, K., Yu, Y., & Hwang, S. (2003). Selective optimization in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: Partial acidification and methanation. *Water Research*, 37(10), 2467–2477. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00006-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00006-X)
- Yorgun, M. S., Balcioglu, I. A., & Saygin, O. (2008). Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. *Desalination*, 229(1–3), 204–216. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.09.008>
- Zhang, J., Zhang, Y., Quan, X., Liu, Y., An, X., Chen, S., & Zhao, H. (2011). Bioaugmentation and functional partitioning in a zero valent iron-anaerobic reactor for

- sulfate-containing wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 174(1), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.08.069>
- Zhang, L., Keller, J., & Yuan, Z. (2009). Inhibition of sulfate-reducing and methanogenic activities of anaerobic sewer biofilms by ferric iron dosing. *Water Research*, 43(17), 4123–4132. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.013>
- Zhang, Y., Feng, Y., Yu, Q., Xu, Z., & Quan, X. (2014). Enhanced high-solids anaerobic digestion of waste activated sludge by the addition of scrap iron. *Bioresource Technology*, 159, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.114>
- Zhang, Y., Jing, Y., Zhang, J., Sun, L., & Quan, X. (2011). Performance of a ZVI-UASB reactor for azo dye wastewater treatment, (August 2010), 199–204. <https://doi.org/10.1002/jctb.2485>
- Zhao, J., Liu, Y., Wang, D., Chen, F., Li, X., Zeng, G., & Yang, Q. (2017). Potential impact of salinity on methane production from food waste anaerobic digestion. *Waste Management*, 67, 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.016>

Anexos

A.1. Calibração das bombas peristálticas

Para que ambas as bombas operassem com o caudal desejado, 0,5 L/h, procedeu-se à calibração das mesmas. Para tal, aplicaram-se diferentes potências de bomba e estimou-se o caudal através da equação seguinte.

Equação 20

$$Q \left[\frac{L}{h} \right] = \left[\frac{\text{Volume medido [L]}}{\text{Tempo [h]}} \right]$$

Considerando o eixo das abcissas o valor da potência da bomba, e o eixo das coordenadas o caudal da mesma, obteve-se as retas de calibração presentes na **Figura A.1**.

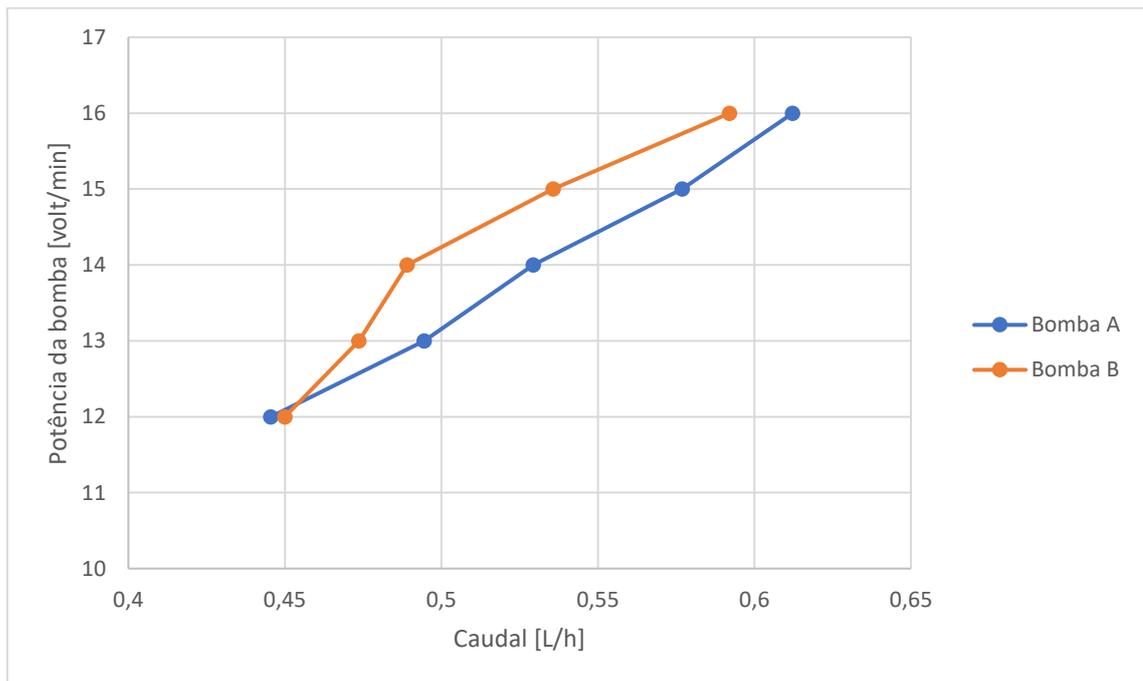


Figura A.1 – Curvas de calibração das bombas peristálticas.

As equações obtidas pela análise do gráfico foram as seguintes:

- Bomba A: Potência [volt/min] = 23,975 * Caudal [L/h] + 1,252; $R^2 = 0,9969$
- Bomba B: Potência [volt/min] = 27,179 * Caudal [L/h] + 0,1897; $R^2 = 0,9410$

A.2. Solução de alcalinidade

- ✓ Pesar 200 g de KHCO_3 ;
- ✓ Dissolver o pesado em 1500 mL de água destilada;
- ✓ Agitar durante 24 horas;
- ✓ Aferir o restante do volume até atingir os 2000 mL.

A.3. Solução de micronutrientes:

- ✓ Pesar 0,0295 g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 0,0480 g de ZnCl_2 ;
- ✓ Pesar 0,0486 g de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 0,0514 g de H_3BO_3 ;
- ✓ Pesar 0,0966 g de $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 0,4863 g de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 0,6181 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 0,9760 g de EDTA;
- ✓ Pesar 1,9498 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 1,9506 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Dissolver os reagentes em 1500 mL de água destilada;
- ✓ Agitar durante 24 horas;
- ✓ Aferir o restante do volume até atingir os 2000 mL.

A.4. Solução de macronutrientes

- ✓ Pesar 15,5809 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 17,5759 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- ✓ Pesar 3331,5485 g de NH_4Cl ;
- ✓ Pesar 72,3083 g de KH_2PO_4 ;
- ✓ Dissolver os reagentes em 1500 mL de água destilada;
- ✓ Aferir o restante do volume até atingir os 2000 mL.

A.5. Soluções para análise de carência química de oxigênio

Solução ácida

- ✓ Pesar 23,3 g de Ag_2SO_4 ;
- ✓ Dissolver o reagente em 2500 mL de ácido sulfúrico concentrado;
- ✓ Agitar durante 24 horas;

Solução oxidante

- ✓ Pesar 20,432 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ previamente seco a uma temperatura de 105 °C até peso constante;
- ✓ Pesar 66,6 g de HgSO_4 ;
- ✓ Dissolver os reagentes em 100 mL de água destilada e 167 mL de ácido sulfúrico concentrado;
- ✓ Agitar durante 24 horas;
- ✓ Aferir o restante do volume até atingir os 2000 mL.

A.6. Tempos de retenção e retas de calibração dos AOV

Na tabela seguinte estão demonstradas as retas de calibração para os diferentes AOV, assim como os respectivos tempos de retenção.

Tabela A.6 – Tempos de retenção e respectivas retas de calibração para os AOV.

Ácido	Tempo de retenção [min]	Reta de calibração	R ²
Hac	2,60 ± 0,07	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 1087,30	0,94
HPr	3,58 ± 0,13	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 1663,40	0,94
i-Hbut	4,56 ± 0,15	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 1937,90	0,95
n-Hbut	5,15 ± 0,19	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 1887,60	0,93
i-Hval	6,30 ± 0,15	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 2180,50	0,95
n-Hval	7,22 ± 0,25	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 1988,80	0,92
n-Caproic	9,22 ± 0,38	Concentração [mg/L] = Área [μV*sec] / 1557,90	0,90

A.7. Valores de recolha dos diferentes parâmetros analisados

Tabela A.7 - Valores de recolha de alimentação e do efluente tratado para os diferentes parâmetros a analisar.

Ensaio	Dia	Reator c/aditivo		Reator s/aditivo		Reator c/aditivo		Reator s/aditivo		Reator c/aditivo		Reator s/aditivo	
		CQO _{total} [gO ₂ /L]	CQO _{solúvel} [gO ₂ /L]	CQO _{total} [gO ₂ /L]	CQO _{solúvel} [gO ₂ /L]	pH	Condutividade [mS/cm]	pH	Condutividade [mS/cm]	SST [g/L]	SSV [g/L]	SST [g/L]	SSV [g/L]
I	10/mar	4,28	2,95	5,46	3,30	7,61	3,60	7,76	3,71	2,32	2,04	2,37	2,00
	11/mar	0,28	0,23	0,37	0,26	7,83	4,14	7,63	4,08	0,71	0,52	0,75	0,59
	13/mar	0,22	0,17	0,28	0,18	7,78	4,50	7,83	4,50	-	-	-	-
	16/mar	0,20	0,09	0,24	0,11	7,80	4,73	7,81	4,81	0,53	0,41	0,49	0,36
II	03/jun	3,51	1,38	3,63	1,4	8,39	3,51	8,12	3,43	2,17	1,99	2,55	2,37
	04/jun	0,48	0,44	0,49	0,46	7,41	4,35	7,21	4,18	0,71	0,52	0,91	0,53
	17/jun	0,17	0,07	0,11	0,05	8,44	4,52	8,41	4,51	0,60	0,37	0,61	0,41
III	17/jun	5,6	2,08	5,13	2,32	7,83	4,21	7,84	4,17	2,01	1,87	1,88	1,77
	18/jun	2,52	1,94	2,13	1,78	6,91	4,56	7,00	4,50	1,05	0,91	0,59	0,41
	24/jun	0,12	0,09	0,11	0,08	7,93	4,74	8,30	4,51	0,83	0,57	0,43	0,28
IV	24/jun	9,05	5,08	7,49	4,6	7,78	4,54	7,89	4,59	2,55	2,45	2,32	2,15
	25/jun	2,67	2,56	2,06	1,42	6,57	4,85	6,79	5,27	0,99	0,72	1,24	0,57
	01/jul	0,15	0,13	0,13	0,08	7,45	5,08	7,69	5,18	0,79	0,64	0,92	0,51
V	01/jul	9,81	5,41	10,04	4,5	7,38	4,45	7,4	4,43	2,39	2,12	2,2	1,84
	02/jul	2,88	2,59	2,97	2,33	5,86	5,42	6,57	5,62	1,80	1,21	1,16	0,71
	08/jul	0,21	0,18	0,23	0,17	7,61	5,84	7,25	6,29	0,93	0,27	0,87	0,40
	09/jul	0,13	0,08	0,14	0,06	7,33	5,96	7,46	6,04	-	-	-	-