



**Cláudia Gomes  
Ferreira Prata  
De Oliveira**

**Substratos para a produção de biopolímeros  
utilizando UASB**



**Cláudia Gomes  
Ferreira Prata  
De Oliveira**

**Substratos para a produção de biopolímeros  
utilizando UASB**

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 Helena Nadais, Professora Auxiliar Convidada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro e com a co-orientação da Professora Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela, Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Professor Doutor Luís Manuel Guerreiro Alves Arroja**

Professor Associado do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

**Professora Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais**

Professora Auxiliar convidada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

**Professora Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela**

Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

**Prof. Doutor Cheng Chia-Yau**

Professor Auxiliar Convidado da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

## **agradecimentos**

À Professora Doutora Helena Nadais e à professora Doutora Isabel Capela pela orientação, extrema paciência, acompanhamento e compreensão ao longo desta jornada.

Às minhas colegas de laboratório pelo apoio e partilha de um espaço que fizeram que fosse mais agradável estar.

À minha família que teve paciência, apoio, incentivo e amor para comigo e a quem eu devo a pessoa que sou.

Aos meus amigos que aturam os meus delírios.

## palavras-chave

Biopolímeros, fermentação acidogénica, lacticínios, ácidos orgânicos voláteis.

## resumo

Este trabalho pretendeu avaliar a produção de substratos para a produção de biopolímeros utilizando um reactor UASB.

Foi realizado um ensaio com carga 5gCQO/l/d utilizando lamas anaeróbias provenientes de uma ETAR de indústria de lacticínios e verificado o comportamento do reactor em modo contínuo ao longo do tempo de operação. Este foi monitorizado em termos de produção de metano, CQOsol, AOV's. Verificou-se que o reactor actuou de maneira diferente ao longo do tempo. Foi possível fazer uma divisão no tempo de operação do reactor em função das diferentes produções de metano. Foram distinguidas quatro fases distintas tendo em conta a produção de metano. A percentagem de metanização e a percentagem de acidificação difere em cada uma das quatro etapas. Também a produção em termos quer da concentração quer do tipo de ácidos orgânicos voláteis foi distinta em cada uma das fases. Os ácidos produzidos com maior frequência foram o ácido acético e o n-valérico.

A primeira fase, o arranque, a percentagem de metanização foi de 7,10% e a percentagem de acidificação foi de 2,86%. A segunda fase teve valores de percentagem de metanização de 38,56% e de acidificação de 12,34%. A terceira fase foi de paragem ao reactor para que houvesse uma adaptação da biomassa aos substratos mais complexos. A quarta e última fase tiveram valores de percentagem de metanização de 114,18% e de acidificação de 33,07%.

**keywords**

Biopolímero, acidogénica fermentación, lácteos, Ácidos grasos volátiles.

**abstract**

This study sought to evaluate the production of substrates for the production of biopolymers using a UASB reactor.

We conducted a test load 5gCQO/l/d using anaerobic sludge from a dairy industry WWTP and observed the behaviour of the reactor continuously over time of operation. This was monitored for methane production, CQOsol, AOV's. It was found that the reactor acted differently over time. It was possible to make a division in time of operation of the reactor according to the different production of methane. Points were awarded in four distinct phases taking into account the production of methane. The percentage of digestion and the rate of acidification differs in each of the four steps. Also the production in terms of concentration and the type of volatile organic acids differed in each of the phases. The acids produced more frequently were acetic acid and n-valeric.

The first phase, the start, the percentage of digestion was 7.10% and the rate of acidification was 2.86%. The second phase, values of percentage of digestion of 38.56% and 12.34% of acidification. The third phase was to stop the reactor so that there was an adaptation of biomass to more complex substrates. The fourth and final phase had the highest percentage of digestion of 114.18% and 33.07% of acidification.



## Índice

### Índice de figuras

### Índice de tabelas

### Acrónimos

<b>1. Introdução.....</b>	<b>7</b>
1.1. Enquadramento .....	9
1.2. O tratamento de águas residuais .....	10
1.3. A indústria de lacticínios.....	11
1.3.1. Caracterização do sector em Portugal e sua evolução.....	11
1.3.2. Os efluentes da indústria de lacticínios.....	14
1.4. Separação por Flutuação .....	18
1.4.1. Flutuação por ar dissolvido – DAF .....	19
1.5. Reactor UASB .....	19
<b>2. Tratamento Anaeróbio.....</b>	<b>21</b>
2.1. Vantagens dos processos anaeróbios .....	23
2.2. O processo de digestão anaeróbia .....	24
2.2.1. Hidrólise.....	24
2.2.2. Acidogénese ou fermentação.....	24
2.2.3. Acetogénese.....	25
2.2.4. Metanogénese.....	26
<b>3. Digestão anaeróbia de efluentes de lacticínios .....</b>	<b>29</b>
3.1. Factores de influência na digestão anaeróbia .....	31
3.1.1. Temperatura .....	31
3.1.2. Necessidades nutricionais.....	31
3.1.3. pH Alcalinidade e AOV's .....	32
<b>4. Biopolímeros .....</b>	<b>34</b>



<b>5.</b>	<b>Objectivos do Trabalho .....</b>	<b>39</b>
<b>6.</b>	<b>Metodologia.....</b>	<b>43</b>
<b>7.</b>	<b>Apresentação de Resultados.....</b>	<b>51</b>
<b>8.</b>	<b>Conclusão.....</b>	<b>61</b>
<b>9.</b>	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>69</b>
<b>10.</b>	<b>Anexos .....</b>	<b>75</b>





## Índice de figuras

Figura 1 - Evolução da produção e dos produtores entre 1993 e 2001.....	12
Figura 2 - Produção de leite em 2008,INE.....	13
Figura 3 - Esquema um modelo de sistema de tratamento biológico em uma e duas fases, com as respectivas legendas. (Nadais, 2002).....	17
Figura 4 - Representação esquemática de um reactor UASB.....	20
Figura 5 – Esquema do processo de digestão anaeróbio. ....	27
Figura 6 - Esquema do reactor UASB e fotografia da instalação no laboratório.....	45
Figura 7 - Valores de CQO total e solúvel medido a cada alimentação. ....	53
Figura 8 - Valores obtidos de CQOsol à saída do reactor. ....	54
Figura 9 - Evolução do caudal de metano diário no reactor UASB. ....	55
Figura 10 - Volume acumulado de $CH_4$ produzido ao longo do tempo. ....	56
Figura 11 - Concentração dos vários ácidos em função do ácido acético. ....	58



## **Índice de tabelas**

Tabela 1 - Valores de produção de leite em toneladas.....	13
Tabela 2 - Composição centesimal do leite de várias espécies animais, incluindo o homem. ....	14
Tabela 3 - Características das lamas biológicas usadas no reactor UASB.....	46
Tabela 4 - Características das lamas DAF usadas na alimentação do reactor UASB .....	46
Tabela 5 - Valores obtidos em cada uma das fases de operação do reactor.....	66



## **Acrónimos**

AOV's – Ácidos orgânicos voláteis

CBO - Carência biológica de oxigénio

CQO - Carência química de oxigénio

GC -Cromatografia a Gás

DAF- Flutuação por ar dissolvido

DNA – Ácido desoxirribonucleico

INAG - Instituto Nacional da Água

INE- Instituto Nacional Estatística

PE – Polietileno

PP- Polipropileno

PS - Poliestireno

PHAs - Polihidroxicanoatos

STV - Sólidos Totais Voláteis

SSV - Sólidos Suspensos Voláteis

TRH- Tempo de retenção hidráulico

UASB – Reactor Anaeróbio de Fluxo Ascendente de leito de lamas



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

# 1. Introdução



## **1.1. Enquadramento**

O Homem é o maior poluidor do ecossistema. O uso dos recursos existentes e a sua conseqüente transformação para benefício próprio traz ao meio envolvente onde se encontra inserido conseqüências nefastas.

Por isso torna-se necessário o tratamento dos resíduos produzidos qualquer que seja o estado final da matéria desses resíduos – sólida, líquida ou gasosa. Esse tratamento é não só uma obrigação para com as gerações presentes mas também para as futuras. Ou seja, tem de encarar-se o fenómeno da pegada ecológica e visualizá-lo como um aspecto de sustentabilidade ambiental. Todos os resíduos são prejudiciais se não obtiverem tratamento apesar do próprio sistema ter uma capacidade depurativa mas no entanto limitada. Tendo em conta este trabalho decorre como maior importância a componente líquida. Se a água utilizada não sofrer tratamento, ou seja água residual, vai contaminar os lençóis freáticos e conseqüentemente solos, águas e todo o meio envolvente inclusive a fauna e flora e obviamente o próprio Homem. Devido ao crescimento populacional e económico do último século este é um problema de ordem planetária e por isso são vitais alternativas para a sua resolução.

Tendo em vista o princípio da abordagem preventiva versus abordagem curativa, é quase sempre mais barato prevenir a degradação e poluição do que ter que tratar em seguida. Os tratamentos de fim de linha da poluição já não são aceitáveis como uma solução permanente: frequentemente estes apenas transferem a poluição de um meio para outro e são muitas vezes muito dispendiosos. Existe cada vez mais uma tendência crescente, para que o tratamento seja aliado a uma valorização do efluente/resíduo, quer energética quer na produção de materiais com aplicações muito diversas. Este trabalho encontra-se como um suporte à implementação dessa tendência de encarar como alternativa, um resíduo como uma nova matéria-prima.



## 1.2. O tratamento de águas residuais

Segundo o Instituto Nacional da Água, o objectivo do tratamento de águas residuais, é proteger o ambiente dos efeitos nefastos das descargas das águas residuais urbanas e das águas residuais de determinados sectores industriais, através da fixação de critérios para o processo de recolha, tratamento e descarga das mesmas.

Existem diversos contaminantes que se encontram descritos por ordem de importância em relação ao tratamento consoante a origem da água residual e o destino final da mesma depois de tratada. Entre eles encontram-se por exemplo, os sólidos suspensos, os compostos orgânicos biodegradáveis, os nutrientes e os metais pesados. (AEA,1998)

Os sólidos suspensos surgem quando a água não tratada é descarregada no meio aquático. A presença de sólidos suspensos pode levar ao desenvolvimento de depósitos de lama e a condições anaeróbias do meio aquático.

Os compostos orgânicos biodegradáveis, que são principalmente compostos pelas proteínas, hidratos de carbono e gorduras, são medidos em termos de carência biológica de oxigénio (CBO) e carência química de oxigénio (CQO). A descarga dos compostos orgânicos biodegradáveis no meio aquático sem tratamento pode levar a condições sépticas e à depleção do oxigénio dissolvido.

As descargas de nutrientes como o fósforo ou o azoto no meio aquático sem controlo também são prejudiciais, uma vez que levam à eutrofização do meio. Podendo poluir as águas subterrâneas e contaminar os lençóis freáticos.

Os metais pesados são dos contaminantes mais prejudiciais. Essencialmente provenientes das actividades industriais, provocam um efeito nefasto ao meio aquático se estiverem acima dos limites permitidos (Crites e Tchobanoglus, 1998).



### **1.3. A indústria de lacticínios**

#### **1.3.1. Caracterização do sector em Portugal e sua evolução**

A relação do ser humano com o leite remonta aos primórdios da humanidade. Foi o consumo de leite de outros mamíferos como alimento um dos factos civilizacionais que marcaram o início de um período fundamental na história da humanidade: a sedentarização.

O leite é o primeiro alimento na nossa vida. Este, juntamente com os seus derivados: queijo, iogurtes, manteiga, forma um elenco de alimentos completos e equilibrados, já que da sua composição fazem parte nutrientes fundamentais. Em termos nutricionais, não é só a sua riqueza em cálcio, a importância deste é muito maior e decorre do facto de este ser um alimento que tem a particularidade de conseguir reunir na sua composição todos os grupos de nutrientes indispensáveis a uma boa alimentação.

Com efeito o leite é uma excelente fonte de outros minerais, para além do cálcio, como fósforo, magnésio e zinco; de proteínas de elevada qualidade ou valor biológico (que são ricas em aminoácidos essenciais) e de vitaminas, principalmente a vitamina A e do complexo B.

Com esta riqueza nutricional o leite perfila-se como alimento altamente nutritivo e dos mais completos e mantém viva a conclusão já registada por Hipócrates de que o "leite é um alimento muito próximo da perfeição".

A evolução tecnológica permitiu, no século XX, pasteurizar e ultrapasteurizar sem retirar benefícios ao leite o que permitiu facilitar-lhe o acesso e conduziu à massificação do seu consumo não só como alimento de validade curta, mas também de média ou longa duração. Actualmente o leite ocupa um lugar absolutamente insubstituível na alimentação humana, em todas as faixas etárias. Por fim, é incomparavelmente versátil podendo ser consumido de várias formas.



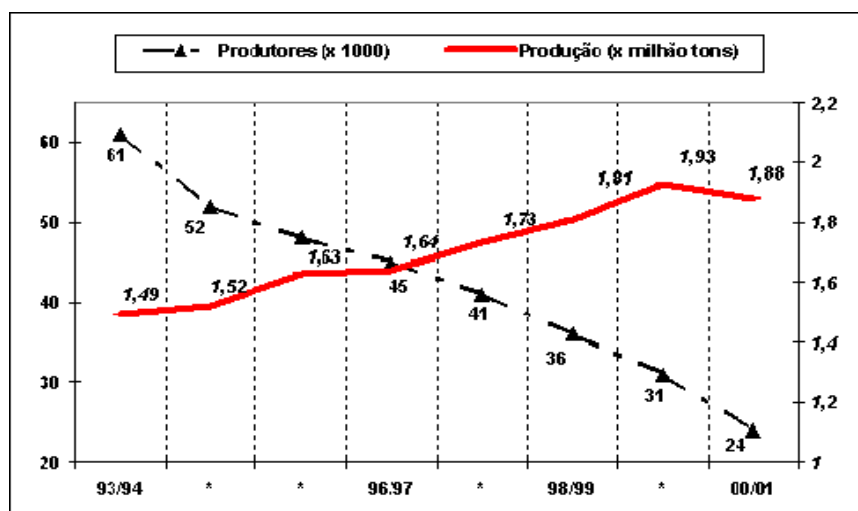
Em Portugal, o leite como alimento é definido como o leite produzido por animais saudáveis, bem alimentados, não fatigados, mantidos em bom estado de higiene, e que satisfaça os seguintes requisitos: ser produto integral da ordenha completa e ininterrupta; não conter colostro; ser isento de coloração, cheiro e sabor anormais; ser colhido, conservado e transportado com observância das prescrições regulamentares em vigor; não conter microrganismos patogénicos, sangue nem substâncias estranhas à sua constituição ou composição química original (mimoso). Além do mais, o custo diário em relação aos benefícios que advém do consumo do leite permite concluir que é excelente a relação custo/benefício.

No nosso país existe uma tradição na produção de leite, no entanto, com o decorrer dos anos e apesar de existir uma evolução crescente na produção, com o avanço tecnológico os pequenos produtores têm sido substituídos pelas grandes empresas do sector havendo assim uma diminuição significativa no número de produtores.

Como é visível no Gráfico seguinte, a evolução de ambos os parâmetros preencheu trajectórias opostas, mais acelerada no que toca ao número dos Produtores.

Figura 1 - Evolução da produção e dos produtores entre 1993 e 2001

Fonte: Agro Portal







Na figura 2, apresentada em seguida observa-se em percentagem a produção de leite em 2008, e na tabela 1 os valores de produção em toneladas referentes a cada um dos tipos de leite: vaca, ovelha e cabra.

Figura 2 - Produção de leite em 2008,INE

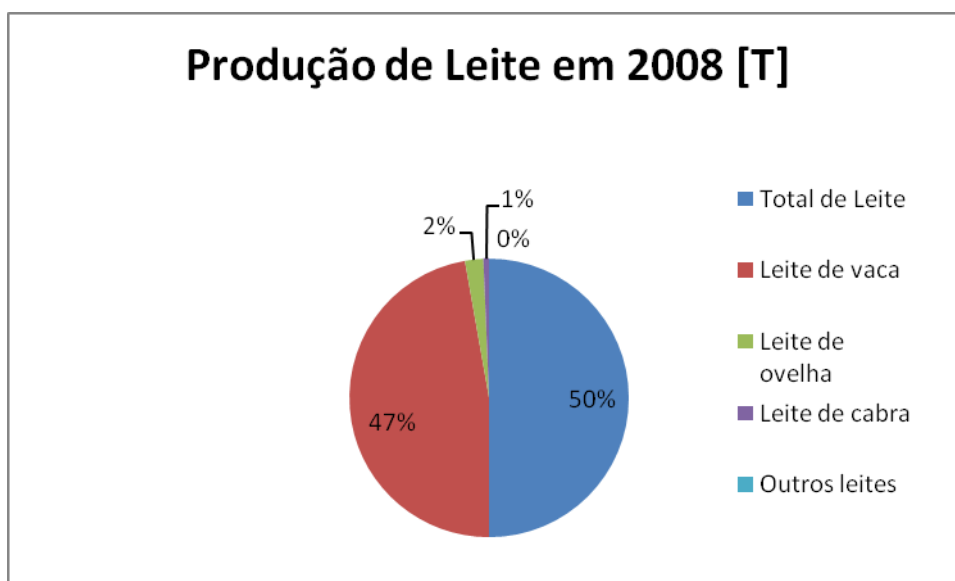


Tabela 1 - Valores de produção de leite em toneladas.

Tipo de Leite	Produção de Leite em 2008 [T]
Total de Leite	2.076.769
Leite de vaca	1.960.899
Leite de ovelha	88.514
Leite de cabra	27.356
Outros leites	0



Nas indústrias de laticínios, por cada litro de leite produzido, são gerados 7 a 10 litros de efluente (Veysseyre, 1988). No entanto, o leite tem a particularidade de ser ao mesmo tempo um produto e uma matéria-prima, pois o volume de leite processado é utilizado no fabrico de outros produtos tais como o leite fresco, nata, iogurtes, queijos, manteigas, leite em pó e soro. Devido às várias aplicações do leite e dos processos industriais utilizados por cada empresa do sector faz com que seja difícil quantificar a razão entre o volume de efluentes líquidos que se forma e o volume de leite processado. Mas à partida, no ano de 2008, segundo o Instituto Nacional de Estatística, o volume de leite antes de ser processado, foi de 2.076.769 milhões de litros, o que traduz que em Portugal são gerados entre 14.537.383 a 20.767.690 milhões de litros de efluente por ano.

O leite representava em 2003 cerca de 70% do consumo *per capita* diário total, seguido dos iogurtes 14% e do queijo 7%, mas estando presente um aumento não só de leite mas também dos seus derivados. No anexo A encontram-se diagramas do processo do fabrico de leite e de outros produtos.

### **1.3.2. Os efluentes da indústria de laticínios**

O leite seja ele de que espécie for, é constituído essencialmente por água cerca de 87%, juntamente com proteínas, hidratos de carbono – lactose, gordura e cinzas. Como se pode visualizar na tabela seguinte as composições de algumas espécies.

Tabela 2 - Composição centesimal do leite de várias espécies animais, incluindo o homem.

Espécie	Proteína	Gordura	Lactose	Cinzas	Água
Humana	1,5	3,5	7,0	0,2	87,8
Bovina	3,5	3,8	5,0	0,7	87,0
Caprina	4,0	3,0	4,8	0,8	87,4
Ovina	5,4	8,2	4,8	0,9	80,7

Fonte: Oliveira, J. S. Queijos: Fundamentos Tecnológicos, 1982



O leite possui a particularidade de ser ao mesmo tempo produto e matéria-prima de todos os produtos decorrentes da indústria de lacticínios. Ao longo dos vários processos que dão origem a cada um desses produtos, queijo, iogurtes, natas, etc., existe a produção de efluentes, entre eles, gorduras, soros e restos de nata, cada um com características diferentes.

No caso da indústria de lacticínios, a composição do efluente é influenciada por diversos factores, tais como:

- Os processos industriais em curso;
  - Volume do leite processado;
  - Condições e tipo de equipamentos utilizados;
  - Quantidade de água utilizada nas operações de limpeza e no sistema de refrigeração,
  - Medidas de redução do volume de efluente;
  - Atitude de gestão em relação à gestão ambiental de todo o processo.
- (Machado et al, 2002)

As águas residuais das indústrias de lacticínios são caracterizadas por um alto teor de matéria orgânica (CQO), cerca de 140 000 mg/l, e uma alta razão Azoto/CQOt. O motivo para a elevada carga orgânica e azotada é pela constituição que apresenta: a lactose, gorduras e proteínas. (Perle et al, 1995)

Por ser uma indústria alimentar além do processo de tratamento e transformação do leite estas indústrias acarretam ainda necessidades de medidas acrescidas de higienização gastando assim mais recursos hídricos em cada um dos processos necessários. Por isso medidas que actuem num sentido de controle ou melhoria da eficiência do consumo de água são essenciais. Por exemplo, o uso das águas finais de lavagem de um ciclo como primeiras águas de lavagem de um ciclo posterior. (Nadais, 2002).



No entanto, mesmo com a prática de uma boa gestão o efluente precisa de ser tratado de modo a reduzir a sua carga de poluente e dado que, por ser um efluente laticínio a presença de gorduras persiste. As gorduras no efluente causam problemas nos sistemas biológicos e precisam de ser removidas antes do tratamento biológico ser aplicado. Para o tratamento biológico de efluentes de indústria de laticínios existem dois tipos de processo.

- Tratamento aeróbio.
- Tratamento anaeróbio.

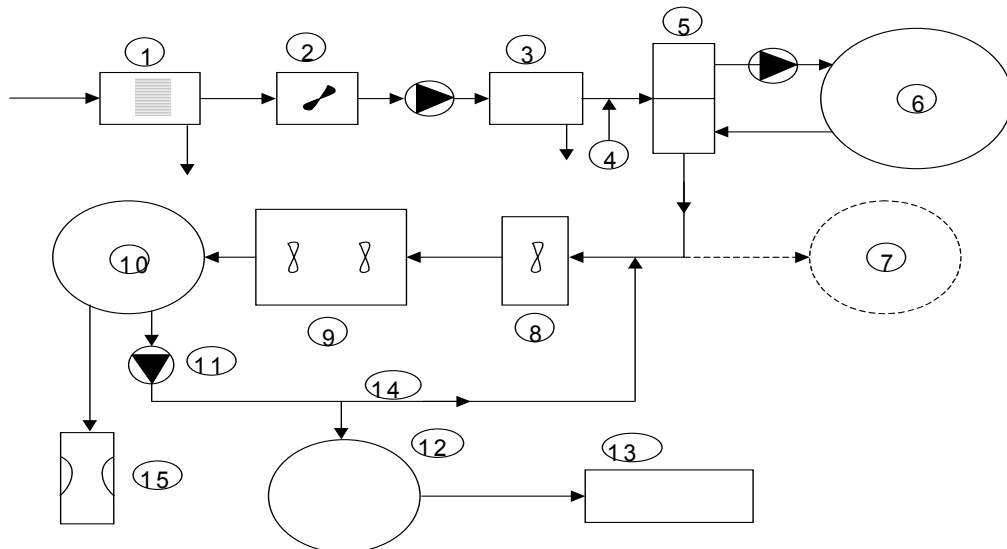
A diferença essencial entre estes dois tratamentos é a presença e ausência nomeadamente de oxigénio. No tratamento aeróbio é necessário fornecer oxigénio devido a usarem-se microorganismos dependentes de oxigénio, e no segundo processo tal necessidade não existir.

Regra geral é escolhido o tratamento anaeróbio, pois o sistema aeróbio apresenta algumas desvantagens. Desde já, está limitado pelo fornecimento de oxigénio. Este aspecto é fulcral quando se considera o tratamento de efluentes com elevada carga orgânica como é o caso dos efluentes de laticínios (Wheatland, 1974). Ou seja, é necessário promover o arejamento do efluente o que provoca gastos elevados de energia. Também apresenta uma redução da eficiência do sistema pois as características de sedimentação das lamas são fracas, o que pode complicar a separação nos decantadores e como tal pela perda pelo efluente final. O crescimento da biomassa é elevado o que faz com que o volume a rejeitar seja elevado o que provoca uma subida dos custos de tratamento. E ainda a necessidade de um tanque de equalização para manter o processo estável, pela diminuição de variações no caudal, carga orgânica e pH (Vidal et al, 2000).

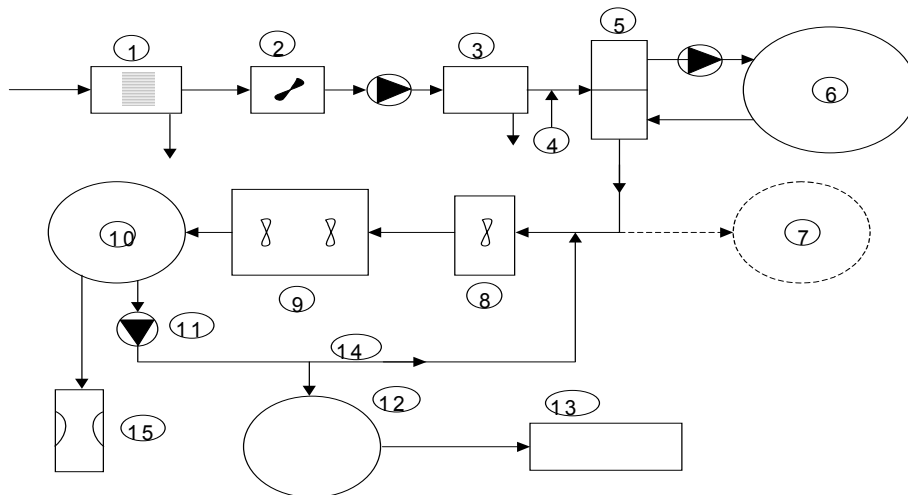
O que por vezes se opta é por uma parceria entre os dois processos. O pré-tratamento do efluente em condições anaeróbias para diminuir a carga do efluente e em seguida o tratamento aeróbio. A figura seguinte, figura 3, apresenta em forma de esquema um modelo de sistema de tratamento biológico em uma e duas fases.



Figura 3 - Esquema um modelo de sistema de tratamento biológico em uma e duas fases, com as respectivas legendas. (Nadais, 2002)



1=gradagem; 2=equalização; 3=desengordurador; 4=tanque de contacto; 5=tanque de arejamento; 6=decantador; 7=controlo; 8=bomba de circulação; 9=espessador; 10=tratamento de lamaz



1=gradagem; 2=equalização; 3=desengordurador; 4=neutralização; 5=bombagem; 6=filtro biológico; 7=decantador; 8=tanque de contacto; 9=tanque de arejamento; 10=decantador; 11= bomba de circulação; 12=espessador; 13=tratamento de lamaz; 14=retorno de lamaz; 15=controlo



#### 1.4. Separação por Flutuação

É necessário referir o sistema de separação por flutuação pois este é o responsável na estação de tratamento de lacticínios pela remoção de gorduras.

A Flutuação é uma operação unitária usada para separar partículas sólidas ou líquida – fase dispersa, em suspensão numa fase líquida – fase contínua. A flutuação com ar é um dos mais antigos métodos de separação de sólidos, óleos, gorduras e materiais fibrosos de águas residuais.

A separação efectua-se pela acção de pequenas bolhas de gás, usualmente ar geradas no seio da fase líquida. As bolhas de gás associam-se à matéria em suspensão e a força exercida é suficiente para fazer com que a partículas sejam transportadas até a superfície do líquido. Assim, faz-se com que partículas mais densas que o líquido flutuem na sua superfície, o que torna possível a separação de partículas ou líquidos mais densos que a água.

No tratamento de águas residuais, a flutuação é usada principalmente para remover material suspenso e para concentrar lamas biológicas. A principal vantagem da flutuação sobre a sedimentação é que partículas muito pequenas ou muito leves, que sedimentam lentamente, podem ser removidas completamente num menor intervalo de tempo. Uma vez que as partículas se acumulam na superfície do líquido, elas podem ser removidas por uma operação de raspagem superficial da água.

As bolhas de ar no seio da fase contínua são geradas da seguinte forma:

- Flutuação por ar dissolvido: Injecção de ar enquanto o líquido está sob pressão, seguida por descompressão;
- Flutuação por ar: Arejamento directo da água residual à pressão atmosférica;
- Flutuação a vácuo: Saturação da água residual com ar à pressão atmosférica, seguida pela aplicação de vácuo ao líquido.



Em todos os sistemas mencionados, o grau de eficiência pode ser aumentado pela adição de aditivos químicos, coagulantes que alteram as propriedades da fase dispersa.

#### **1.4.1. Flutuação por ar dissolvido – DAF**

Em sistemas DAF, o ar é dissolvido na água residual sob pressão, seguido por decompressão até à pressão atmosférica. Em sistemas que processam baixos caudais, a totalidade da água residual pode ser pressurizada por intermédio de uma bomba, geralmente a pressões de 2,75 a 3,5 atm; em simultâneo com a adição de ar comprimido na secção de bombagem. Todo o fluxo é mantido num tanque de retenção sob pressão para permitir que a maior quantidade possível de ar se dissolva no líquido (idealmente a de saturação). O líquido pressurizado é então descarregado através de uma válvula redutora para o tanque de flutuação, onde o ar é libertado por todo o volume do líquido na forma de pequenas bolhas.

#### **1.5. Reactor UASB**

O reactor usado neste trabalho foi um reactor UASB, Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor, ou Reactor Anaeróbio de Fluxo Ascendente de leito de lamas. O UASB foi desenvolvido na Holanda por Lettinga, no final da década de 70, para o tratamento de efluentes industriais.

Uma das maiores vantagens dos reactores UASB é a ausência de material de suporte. A imobilização da biomassa é conseguida apenas devido às excelentes qualidades de sedimentação dos agregados. No entanto, a manutenção da estrutura granular é um factor importante e sabe-se que em determinadas condições pode haver deterioração dos agregados, pondo em causa a estabilidade do reactor e podendo mesmo conduzir à lavagem de células – *washout*.



No reactor UASB existem duas zonas distintas: uma zona inferior designada por leito de lamas, que tem uma concentração elevada de biomassa constituída em grânulos com elevada velocidade de sedimentação e a zona superior onde predominam flocos de pequeno tamanho e em que a concentração de biomassa é muito menor. Devido às cargas aplicadas o gás produzido pode originar o arrasto de alguma biomassa flutuante que existe na secção superior e por esse motivo existe um separador gás-sólido-líquido colocado no topo do digestor.

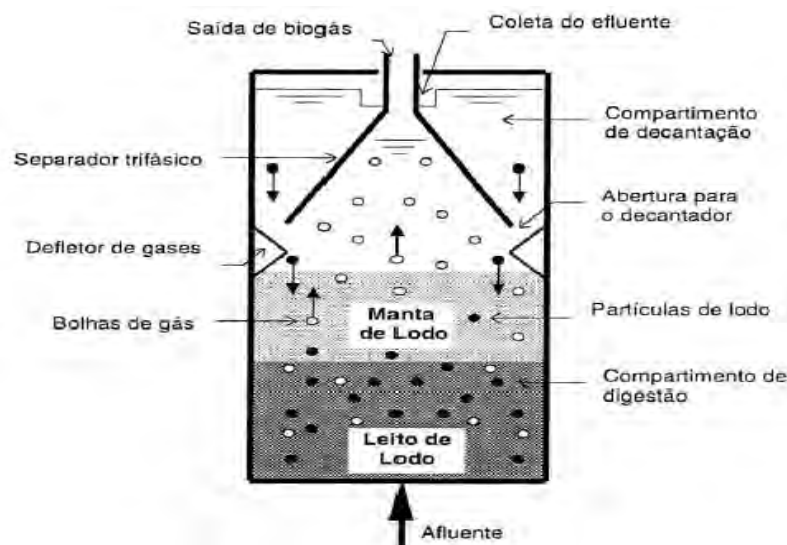


Figura 4 - Representação esquemática de um reactor UASB

O UASB é um reactor que inclui amplas vantagens, principalmente no que diz respeito a requisitos de área, simplicidade de operação, manutenção e redução média de matéria orgânica, é importante que seja incluída uma etapa de pós-tratamento para limpeza de seus efluentes. Em contrapartida, os reactores UASB podem substituir com vantagens incontestáveis os decantadores primários, utilizados na maioria das estações com biofiltros em operação para o tratamento secundário de esgoto doméstico na Europa.

Na operação dos reactores UASB, a tratar efluentes de laticínios ou complexos, há alguns parâmetros que têm importância fundamental no desempenho do sistema, sendo o tempo de retenção hidráulico (TRH), a carga aplicada e a velocidade ascensional os mais importantes (Nadais 2002).





Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## **2. Tratamento Anaeróbio**



## **2.1. Vantagens dos processos anaeróbios**

Existem várias referências na literatura em relação às vantagens do processo anaeróbios tais como (Lettinga et al, 1980; Olthoff et al, 1983; Van Lier et al, 2001). Entre essas vantagens salientam-se as seguintes:

Não existir necessidade de fornecimento de oxigénio às bactérias, o que traduz numa poupança de energia. Outro aspecto, é o facto dos processos anaeróbios serem mais económicos em comparação com os sistemas aeróbios, pois para a mesma carga aplicada que no processo aeróbio, a produção de lamas em excesso é muito menor, o que implica grandes poupanças, dado que o custo de deposição das lamas é um dos maiores custos das estações de tratamento. Além do mais, as lamas produzidas em excesso têm boas características para utilização como condicionadores de solos tornando-se assim viáveis e ajudando a sustentabilidade de todo o processo. Também ainda na perspectiva da sustentabilidade como se sabe, um dos produtos finais da digestão anaeróbia é o metano, gás este que pode funcionar em simultâneo como processo de tratamento de águas e processo de produção de energia. Devido à produção de metano os processos anaeróbios requerem menores necessidades de nutrientes. A digestão anaeróbia apresenta ainda como outra importante vantagem, a característica que pode suportar cargas muito mais elevadas que as cargas usadas nos processos aeróbios, sendo portanto necessário um volume muito menor de reactor anaeróbio para a mesma carga a tratar. Os processos anaeróbios apresentam ainda uma facilidade de operação e uma tolerância a condições ambientais adversas, tais como a baixa temperatura, e a presença de tóxicos.

É ainda de referir a capacidade da biomassa anaeróbia preservar a sua actividade após longos períodos sem operar, o que pode relevar-se vantajoso para as actividades de carácter sazonal.



## **2.2. O processo de digestão anaeróbia**

A digestão anaeróbia consiste num processo em que os resíduos orgânicos sofrem um processo de degradação, por acção de microrganismos anaeróbios, na total ausência de oxigénio. A degradação da matéria orgânica a metano e dióxido de carbono ocorre por acção combinada de diferentes populações microbianas, anaeróbias facultativas ou anaeróbias obrigatórias, segundo algumas etapas principais:

### **2.2.1. Hidrólise**

Neste processo a matéria orgânica particulada é convertida em compostos dissolvidos de menor peso molecular, por meio da interferência das chamadas exo-enzimas, que são enzimas extra- celulares que são excretadas pelas bactérias fermentativas. As proteínas são degradadas a (poli)peptídeos para formar aminoácidos. Ou seja, consiste na hidrólise dos polímeros em monómeros. Os hidratos de carbono transformam-se em açúcares solúveis e os lípidos são convertidos em ácidos gordos de longa cadeia de carbono e glicerina. Este fenómeno ocorre pois as bactérias têm baixa capacidade para assimilar material orgânico na forma particulada. A velocidade da hidrólise pode ser a etapa limitante para o processo da digestão anaeróbia, pois interfere na velocidade da conversão do material orgânico complexo para biogás.

### **2.2.2. Acidogénese ou fermentação**

Na acidogénese os produtos da hidrólise são transportados para o interior da célula das bactérias fermentativas, onde são transformados em produtos intermediários como ácidos gordos voláteis, álcoois e compostos minerais.



Os principais produtos gerados são os ácidos: acético, propiónico, isobutírico, n-butírico, isovalérico, n-capróico, dióxido de carbono, ácido sulfídrico e hidrogénio, além de novas células bacterianas. Ou seja são excretados como substâncias orgânicas simples (Andrews, 1971).

Estudos microbiológicos da população fermentativa em reactores anaeróbios mostraram que a maioria das bactérias fermentativas são anaeróbias obrigatórias sendo outras anaeróbias facultativas (Mah & Sussman, 1968). As últimas apresentam grande importância no processo de digestão anaeróbia, pois consomem o oxigénio eventualmente dissolvido no meio, mantendo assim o baixo potencial redox no meio.

A conversão dos hidratos de carbono solúveis ocorre pela via de Embden-Meyerhof, a qual é de importância vital para a produção de ATP nos organismos anaeróbios (Brock et al, 1994). Nesta via há dois passos principais: a oxidação a piruvato, passo produtor de electrões, e reacção para produtos, este que é um passo consumidor de electrões.

A degradação de aminoácidos pode ser realizada por duas vias principais:

- Fermentação por reacção de Stickland (oxidação redução emparelhada);
- Degradação e um único aminoácido como um aceitador de electrões externo.

Os produtos das reacções de Stickland são os enunciados anteriormente.

A população acidogénica representa cerca de 90% da população bacteriana total dos digestores anaeróbios e apresenta reduzidos tempos de duplicação, pelo que esta nunca é a etapa limitante do processo. (Zeikus, 1980)

### **2.2.3. Acetogénese**

A Acetogénese é a conversão dos produtos da acidogénese em compostos que formam os substratos para produção de metano: acetato, hidrogénio e dióxido de



carbono por acção das bactérias homoacetogénicas e das bactérias sintróficas, também chamadas produtoras obrigatórias de hidrogénio. As bactérias homoacetogénicas produzem acetato a partir  $H_2/CO_2$  ou de compostos orgânicos multicarbonados (ex. açúcares). Uma fracção de aproximadamente 70% da produção de metano e converte-se em ácido acético (McCarthy).

Caso haja um acréscimo muito rápido da concentração de matéria orgânica, pode resultar no acréscimo da produção de ácidos com conseqüente queda do pH podendo vir a prejudicar o desempenho da etapa metanogénica.

#### **2.2.4. Metanogénese**

A metanogénese, em geral, é o passo que limita a velocidade do processo de digestão como um todo. As condições do sistema devem satisfazer principalmente aos requerimentos das bactérias metanogénicas para uma máxima produção de metano, garantindo o equilíbrio do processo. O metano é produzido pelas bactérias acetotróficas, a partir da redução de ácido acético, ou pelas bactérias hidrogenotróficas, a partir da redução do dióxido de carbono.

– Metanogénese acetotrófica ou acetoclástica:  $CH_3COO^- + H^+ \rightarrow CH_4 + CO_2$ ;

– Metanogénese hidrogenotrófica:  $4 H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 2 H_2O$ ;

A fermentação ácida tende a causar um abaixamento do valor de pH, devido à produção de ácidos voláteis e outros produtos intermédios, como visto anteriormente. Entretanto a metanogénese somente se desenvolverá quando o pH estiver próximo ao ponto neutro. (pH=7).

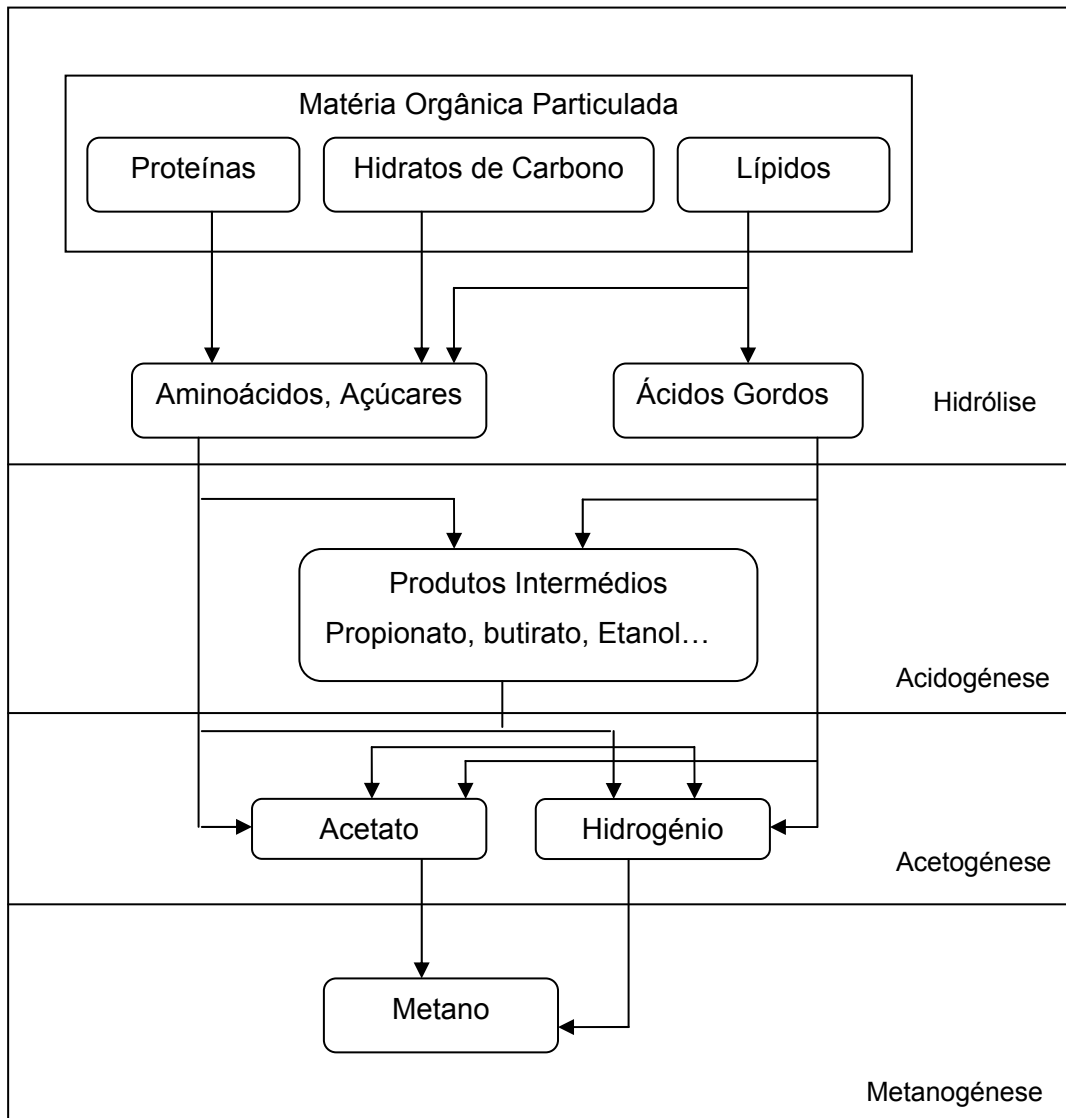
No entanto é de salientar que o que se pretende que ocorra neste trabalho é a inibição da metanogénese para que ocorra a produção de AOV's.

O esquema seguinte ilustra o processo de digestão anaeróbio descrito.



Figura 5 – Esquema do processo de digestão anaeróbio.

Fonte(adaptado): Gujer, W. e Zehnder





### **3. Digestão anaeróbia de efluentes de lacticínios**



### **3.1. Factores de influência na digestão anaeróbia**

#### **3.1.1. Temperatura**

A temperatura de operação assume grande influência no processo de degradação anaeróbia. Existem três gamas de temperaturas que são consideradas quando se refere a actividade microbiana:

Psicrófila  $T > 20^{\circ}\text{C}$ ;

Mesófila para Temperaturas entre  $20^{\circ}\text{C}$  e  $45^{\circ}\text{C}$ ;

Termófila para Temperaturas superiores a  $45^{\circ}\text{C}$ .

As bactérias metanogénicas apresentam um crescimento máximo na gama mesófila, para temperaturas entre  $30^{\circ}\text{C}$  e  $38^{\circ}\text{C}$  e na gama termófila entre  $49^{\circ}\text{C}$  e  $57^{\circ}\text{C}$ .

Na maioria dos casos a gama de temperatura utilizada é a mesófila, pois para a gama seguinte, a termófila, é verificado uma instabilidade do sistema, maiores problemas com odores, espumas e um aumento dos organismos metanogénicos além de mais custos energéticos (Grady et al, 1999;Hwu, 1997). No entanto para a gama mais baixa, psicrófila, também é necessária ter em conta o aspecto da retenção hidráulica de maneira que se obtenha a mesma eficiência que se obtém na gama mesófila.

#### **3.1.2. Necessidades nutricionais**

Os microorganismos necessitam de ingredientes essenciais para o crescimento, nomeadamente de macro e micronutrientes. Dado que em processos de digestão anaeróbia os rendimentos bacterianos são relativamente baixos, também as necessidades em nutrientes são relativamente pequenas.





Sendo normalmente a etapa limitante do processo de degradação anaeróbia, a metanogénese deve estar asseguradas as suas necessidades nutricionais no sentido de garantir a eficiência e estabilidade operacionais. (Speece, 1983). Azoto (N) e fósforo (P) são os nutrientes essenciais para todos os processos biológicos. A quantidade de N e P, em relação à matéria orgânica presente expressa como CQO, por exemplo, depende da eficiência dos microrganismos em obter energia para síntese, a partir das reacções bioquímicas de oxidação do substrato orgânico. A baixa velocidade de crescimento dos microrganismos anaeróbios, comparados aos aeróbios, resulta em menor requerimento nutricional.

Em geral, admite-se que a relação CQO:N:P de 500:5:1 é suficiente para satisfazer às necessidades de macronutrientes dos microrganismos anaeróbios (Speece, 1996). Além do azoto e do fósforo, o enxofre (S) é também considerado um dos nutrientes essenciais para a metanogénese. Em geral, a concentração de S deve ser da mesma ordem de grandeza ou levemente superior às de fósforo.

Dentre os micronutrientes considerados essenciais, destacam-se o ferro, o cobalto, o níquel e o zinco.

### **3.1.3. pH Alcalinidade e AOV's**

A interacção entre estes três factores é conivente para que se assegure quer a manutenção do equilíbrio do sistema anaeróbio quer para o crescimento óptimo dos microorganismos.

As bactérias produtoras de ácidos voláteis têm crescimento óptimo entre o pH de 5 e 6.

Os organismos metanogénicos são de entre todos os microorganismos envolvidos na digestão anaeróbia, aqueles que são mais sensíveis às variações de pH (Grady et al, 1999).

A relação da alcalinidade com os ácidos voláteis é estabelecida pela capacidade da alcalinidade do sistema em neutralizar os ácidos gerados na digestão anaeróbia e em tamponar o pH em relação à acumulação dos ácidos voláteis.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

Quando por si só o meio não origina a formação da alcalinidade é necessária a adição de compostos químicos tais como o bicarbonato de sódio.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## **4. Biopolímeros**



Os polímeros são compostos químicos de elevada massa molecular, de origem orgânica ou inorgânica, natural ou sintética, cuja estrutura molecular consiste na repetição de pequenas unidades, os monómeros. Vulgarmente são conhecidos como plásticos mas como foi referido podem ser de origem orgânica. Por exemplo, o ADN, que contém o código genético que define as características dos seres vivos, é um polímero. A sua composição é baseada num conjunto de cadeias cada cadeia é uma macromolécula constituída por união de moléculas simples ligadas por covalência.

O número de unidades estruturais repetidas numa macromolécula é chamado grau de polimerização. Em geral, os polímeros contêm os mesmas proporções relativas que os seus monómeros mas em maior quantidade absoluta.

Os biopolímeros, polissacarídeos de origem microbiana, devido às suas características físico-químicas, com capacidade de se formarem em baixas concentrações, em amplas faixas de pH e temperatura, presentemente estão a ser utilizados em diversos segmentos industriais (Scamparini et al., 1997). As propriedades funcionais dos biopolímeros são consideradas uma ferramenta poderosa para se criar novas texturas. Os biopolímeros possuem inúmeras aplicações como agentes estabilizantes, gelificantes e espessantes nas indústrias de alimentos, embora possam ser aplicados nas indústrias químicas, petroquímicas e têxteis (Sanderson, 1983).

Dada a complexidade do efluente de lacticínios que possuem vários compostos quer sejam os hidratos de carbono as proteínas e as gorduras todas elas presentes sob a formas de polímeros complexos. Por causa do trabalho em causa é necessário falar em relação aos Polihidroxialcanoatos ou PHAs que são poliésteres lineares produzidos na natureza ou em laboratório por fermentação bacteriana de açúcares ou lípidos. São produzidos pelas bactérias para armazenar carbono e energia ou de redução de material de armazenamento de energia em diversos microorganismos. Mais de 150 monómeros diferentes podem



ser combinados dentro da família para dar materiais com propriedades muito diferentes.

Podem ser materiais ou termoplásticos com pontos de fusão variando entre temperaturas de 40°C a 180°C. A mecânica e a biocompatibilidade dos PHAs também podem ser alteradas por mistura, modificando a superfície ou combinando PHAs com outros polímeros, enzimas e matérias inorgânicas, tornando possível assim uma ampla gama de aplicações. Tem propriedades semelhantes ao polipropileno (PP), polietileno (PE) e poliestireno (PS) para aplicações de curto prazo de vida e mesma gama de aplicações que estes por causa das suas similares propriedades mecânicas. (Lee, 1996 Carrasco et al., 2004, Poirier et al., 1995). Um obstáculo para a aplicação de PHAs é o seu elevado custo de produção. O seu preço é aproximadamente dez vezes superior do que os polímeros sintéticos provenientes do petróleo. (Leetinga, 1994).

Tem sido explorado um novo processo para a produção de PHAs a partir de resíduos feito a partir de uma combinação entre processos anaeróbios e aeróbios (Dionisi et al., 2004). Têm sido elaborados estudos no sentido da conversão do que á partida é resíduo e transformá-lo em produtos valiosos, como o metano e etanol para reduzir o custo de tratamento e eliminação das lamas (Lee, 1991).

A formação de metano envolve formação de ácidos orgânicos voláteis, como ácido acético, ácidos propiónico e butírico dos hidratos de carbono por bactérias acidogénica (Yu e Pinder, 1993a). Os ácidos orgânicos seriam produtos de valor se os ácidos de baixa concentração pudessem ser recuperados de forma economicamente eficaz.

Os ácidos gordos também podem ser utilizados e polimerizados em PHAs por bactérias como *eutrophus Alcaligenes* sob desequilibradas condições de crescimento, como a limitação de azoto (Doi et al., 1987). Como um esconderijo de armazenamento de carbono e energia, PHA é acumulado nas células microbianas sob a forma de hidrofóbicos grânulos de poliéster, de uma forma que



os ácidos orgânicos concentrados que podem ser recuperados mais facilmente do que os ácidos livres. A diferente constituição dos ácidos possui grande influência na composição dos polímeros produzidos. Por exemplo, um aumento do hidrovalérico no PHAs melhora as capacidades térmicas e mecânicas do polímero (Yu, 2001; Dionisi, 2004).

A maioria dos estudos sobre a produção de PHA por culturas mistas foram realizadas com aminoácidos sintéticos orgânicos, dão-se com a presença de ácido acético, propiónico, butírico e por vezes valérico. (Beccari et al., 2002; Dionisi et al., 2004; Serafim et al., 2004, Lemos et al., 2006). Além do que, os estudos descrevem a produção de PHAs com culturas mistas realizam a selecção da cultura e a acumulação de PHAs em duas etapas distintas. (Dionisi et al., 2004)

Para reduzir seu custo de produção, tem sido dedicado estudos ao desenvolvimento de melhores estirpes bacterianas e de processos fermentação / recuperação mais eficientes. Pois o uso de mistura de culturas e substratos baratos podem reduzir o custo de produção de PHA. (Dionisi, 2004)

A acumulação de PHAs em mistura de culturas ocorre sob condições transitórias causadas principalmente pela alimentação intermitente fornecida e variação do dador / aceitador de electrões. As culturas mistas são populações microbianas de desconhecida composição, que são seleccionadas pelas condições operacionais impostas ao sistema biológico. A capacidade máxima de armazenamento dos PHAs e a taxa de produção de PHAs são dependentes do substrato utilizado e as condições de operação utilizadas. São vários os aspectos que podem variar a produção de PHAs tais como: o metabolismo, os vários mecanismos para a produção de PHA feito a partir de mistura de culturas, a cinética de acumulação de PHA e conversão; os efeitos da fonte de carbono e da temperatura.



Como tal é necessário fazer-se mais estudos que incidam sobre estes aspectos para verificar a sua importância na produção de PHAs.

A produção de PHAs a partir de resíduos orgânicos pode reduzir significativamente o custo de produção. Isto porque a matéria-prima passará a ter custo nulo, dado que é lixo, e consequentemente será menor a quantidade de lamas produzidas quando está integrado um sistema de tratamento de resíduos biológicos.

Em suma, os PHAs são considerados bons candidatos para a produção de plásticos biodegradáveis pois são interessantes alternativas aos tradicionais plásticos, pelo facto de terem o duplo benefício em relação aos tradicionais plásticos de serem como o nome indica, biodegradáveis e porque podem ser feitos de recursos renováveis. Presume-se que os plásticos biodegradáveis têm um mercado emergente se for possível baixar os seus custos de produção ou aprimorar técnicas a partir da sua produção através dos resíduos pois são produzidos a partir de recursos renováveis e por isso são vantajosos como sendo uma ferramenta para um incremento da qualidade ambiental.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## **5. Objectivos do Trabalho**





Actualmente a consciencialização ambiental tem aumentado. A quantidade e tipo de resíduos e as emissões e/ou efluentes gerados pelas indústrias, provocam impactes ambientais significativos e levantam enormes preocupações no que diz respeito ao seu destino final.

Este trabalho surge como um patamar para criar-se uma nova abordagem de encarar um resíduo como uma nova matéria-prima. Os efluentes industriais complexos contendo gordura, como é o caso da indústria de lacticínios, são um exemplo de como se pode reaproveitar um resíduo. A formação de ácidos orgânicos voláteis tendo em conta a quantidade produzida e a influência que essa quantidade provoca na mistura para a formação de biopolímeros é um aspecto relevante. Assim, este trabalho tem como objectivo principal a produção de substratos com a composição correcta mais próxima possível com boas propriedades termoplásticas para a produção de biopolímeros utilizando um reactor UASB.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## 6. Metodologia



Para a realização deste trabalho foi utilizado um reactor UASB laboratorial em perspex como se visualiza na figura seguinte, com uma altura de 86,4 cm e um volume útil de 6 litros. O reactor possui um separador de gás-sólido-líquido baseado na descrição de Fergala (1995).

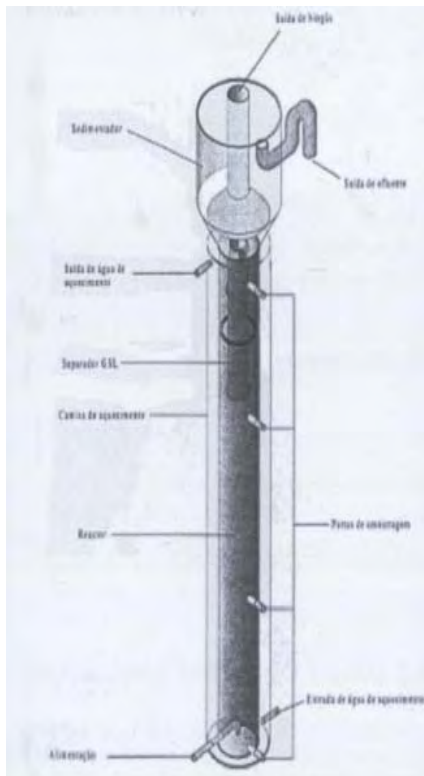


Figura 6 - Esquema do reactor UASB e fotografia da instalação no laboratório

Acoplado ao reactor estava um termóstato, onde a temperatura do reactor foi mantida a 35°C, por meio de uma camisa de aquecimento ligada a um banho com recirculação. No balde onde estava o banho, foi colocado esferovite para evitar que a evaporação da água ocorresse tão depressa devido à temperatura elevada. O que fez que diminuísse a periodicidade de colocar água nos banhos



para que não se estragasse o termóstato. O biogás produzido foi medido inicialmente por um sistema de deslocação de água e posteriormente devido ao aumento de produção de biogás foi utilizando um medidor de biogás. A alimentação era fornecida ao reactor através de uma bomba.

O reactor foi operado de forma contínua, e quer a alimentação quer o efluente provinham da indústria de lacticínios, Bel Fromageries situada em Vale de Cambra.

O arranque efectuou-se com a colocação de lamas biológicas, após a sua caracterização, de modo a que estas ocupassem aproximadamente 2/3 do volume do corpo do reactor, o que correspondia a 4 litros, perfazendo em seguida o enchimento do restante volume, cerca de 2 litros com água até esta sair linha do efluente líquido. Sendo depois ligado o banho de aquecimento.

As características das lamas biológicas e das DAF usadas estão apresentadas nas tabelas seguintes:

Tabela 3 - Características das lamas biológicas usadas no reactor UASB.

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor [mg/l]</b>
Sólidos Totais Voláteis (STV)	23953
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	16600

Tabela 4 - Características das lamas DAF usadas na alimentação do reactor UASB

<b>Parâmetro</b>	<b>Valor [mg/l]</b>
Sólidos Totais Voláteis (STV)	151667
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	176667



A operação do reactor foi efectuada ao longo de cerca de 200 dias, no entanto com algumas pausas na alimentação. A alimentação, 50l, foi preparada de quatro em quatro dias. As lamas do DAF eram extremamente espessas o que obrigava a que se fizesse uma boa mistura através de um agitador eléctrico colocado no balde da respectiva alimentação.

A carga com que o reactor operou foi de 5 gCQO//dia. O caudal de alimentação foi mantido constante no valor de 12l/dia ou seja 0,5l/h. O caudal era medido a cada alimentação e ajustado sempre que necessário. Em cada nova alimentação foram adicionados micro e macronutrientes na razão de 1ml/L de alimentação. As quantidades de cada um dos nutrientes encontram-se descritas em anexo C.

Foram recolhidas amostras para análise de biogás, CQOsolúvel e ácidos orgânicos voláteis, AOV's. Estas eram recolhidas diariamente, sendo portanto representativas do efluente produzido num período de 24 horas. E a cada nova alimentação era medido CQOtot e CQOsol da mesma.

A cada alimentação os tubos que faziam a ligação entre o balde com a alimentação e o reactor necessitavam de limpeza, dado o entupimento por gorduras.

A análise de CQO baseia-se no facto de a maioria dos compostos orgânicos ser oxidada por uma mistura de dicromato de potássio com ácido sulfúrico, em condições de ebulição. Numa solução fortemente ácida com uma quantidade conhecida de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em excesso, digeriu-se a amostra a uma temperatura de 150°C, em refluxo fechado, durante 2 h. Durante a digestão, a matéria orgânica oxidou-se à custa da redução do dicromato resultando a formação de crómio (III). Este formou-se em quantidade equivalente à do dicromato reduzido, e conseqüentemente, equivalente à carência química de oxigénio.



A reacção que envolve a oxidação das substâncias pelo dicromato de potássio é aqui ilustrada com o hidrogenoftalato de potássio.



Depois da oxidação, deixou-se arrefecer a mistura e leu-se a absorvância da mistura.

As amostras de CQOsolúvel foram feitas em triplicado. Para a análise da CQOsolúvel tem de fazer-se uma filtração em membrana (Whatman Schleicher & Schuell Purabind 045 de diâmetro 47 mm e diâmetro de poro 0,45 µm).

As amostras de AOV's foram preparadas por filtração e o filtrado, acidificado com ácido fórmico para conservação no frigorífico e posterior análise.

Na determinação foi usado um cromatógrafo de gás, GC, Chrompack 9001 C equipado com um detector de ionização de chama, com o Hélio como gás de arraste, com um caudal de 8 ml/min e usando uma coluna Chrompack. A temperatura máxima da coluna foi de 290°C, a de injeção 270°C, e a do detector 300°C. As características estão referidas no Anexo B.

O teor de metano no biogás foi analisado num cromatógrafo de gás equipado com um detector de condutividade térmica. O hélio foi o gás de arraste com um caudal de 10 ml/min. A temperatura de corrida 60-61°C. As características do equipamento encontram-se no Anexo B.

Posteriormente, a partir do dia noventa e sete de operação foi adicionado bicarbonato de sódio,  $\text{NaHCO}_3$  e bicarbonato de potássio,  $\text{KHCO}_3$ , à alimentação na razão de uma grama por cada litro de alimentação de maneira a manter o poder tampão à mesma.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

Os parâmetros analisados foram determinados de acordo com os métodos indicados no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995).



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## **7. Apresentação de Resultados**





O reactor UASB operou durante duzentos dias. A carga com que o reactor operou foi mantida a 5 gCQO//dia. O tempo de retenção hidráulica de 12h foi mantido constante ao longo da operação do reactor. O caudal era medido a cada alimentação e ajustado sempre que necessário, e foi mantido constante no valor de 12l/dia, o que dá 0,5l/h. A alimentação, 50l, foi preparada de quatro em quatro dias. A cada nova alimentação era medido CQO<sub>tot</sub> e CQO<sub>sol</sub>. Os gráficos de carência química de oxigénio da alimentação preparada, de produção de metano diária, de produção de metano acumulada e de concentração dos vários ácidos em função do ácido acético são apresentados de seguida.

No gráfico seguinte, figura 7, estão os valores medidos de CQO total e solúvel a cada alimentação. Ao longo da operação foram feitas cerca de quarenta alimentações.

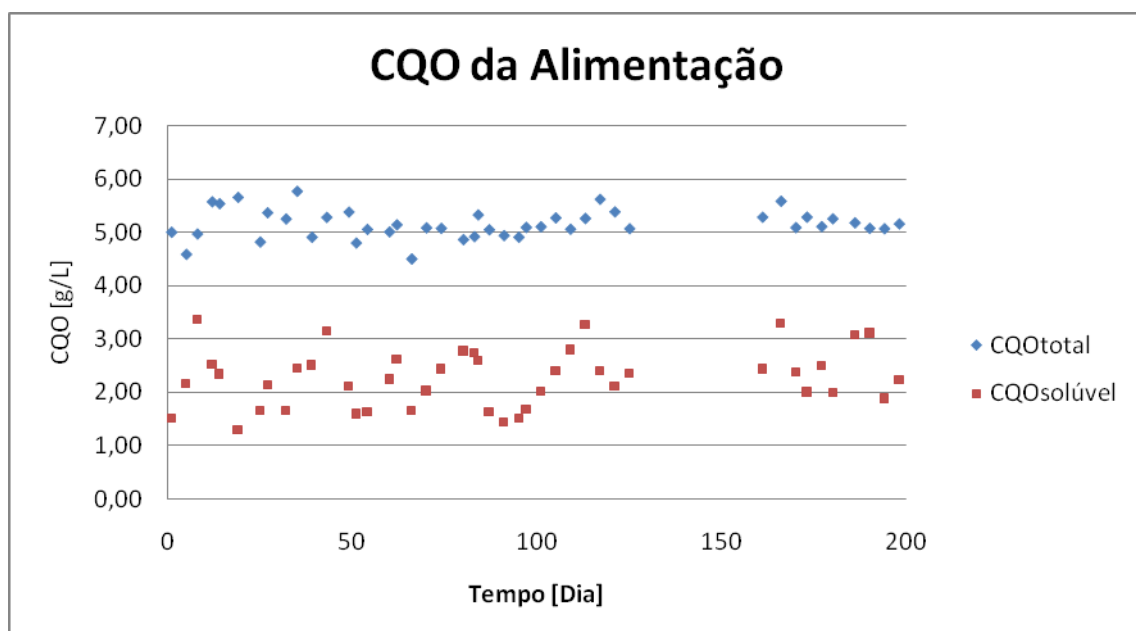


Figura 7 - Valores de CQO total e solúvel medido a cada alimentação.

A carga com que o reactor operou foi mantida a 5 gCQO//dia e quantidade diária de entrada de CQO no reactor tendo em conta os valores acima referidos tinha uma média de 60 gCQO/dia. Sendo depois calculado o CQO<sub>sol</sub> à saída do



reactor. O gráfico seguinte mostra os valores obtidos de CQOsol à saída do reactor.

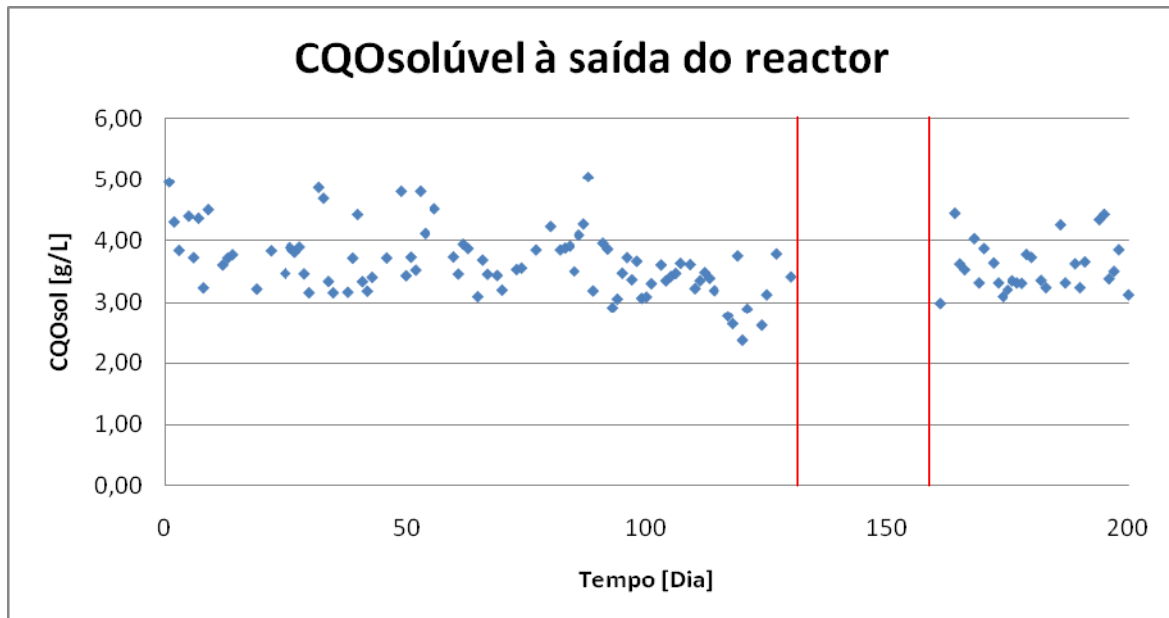


Figura 8 - Valores obtidos de CQOsol à saída do reactor.

Foi considerado como valor médio de CQOsolúvel de saída o valor de 3,63 [g/l], o que perfaz um valor de 43,56 [gCQO/d]. O espaçamento que se observa entre as linhas vermelhas do gráfico sem medições refere-se a uma pausa que foi feita ao reactor explicada em seguida com o auxílio do gráfico de volume acumulado de metano. Os valores médios de CQO de entrada e os valores de CQO de saída foram usados para fazer um balanço em termos de CQO que é apresentado numa tabela resumo.



O gráfico seguinte, figura 9, mostra a evolução do caudal de metano diário no reactor UASB.

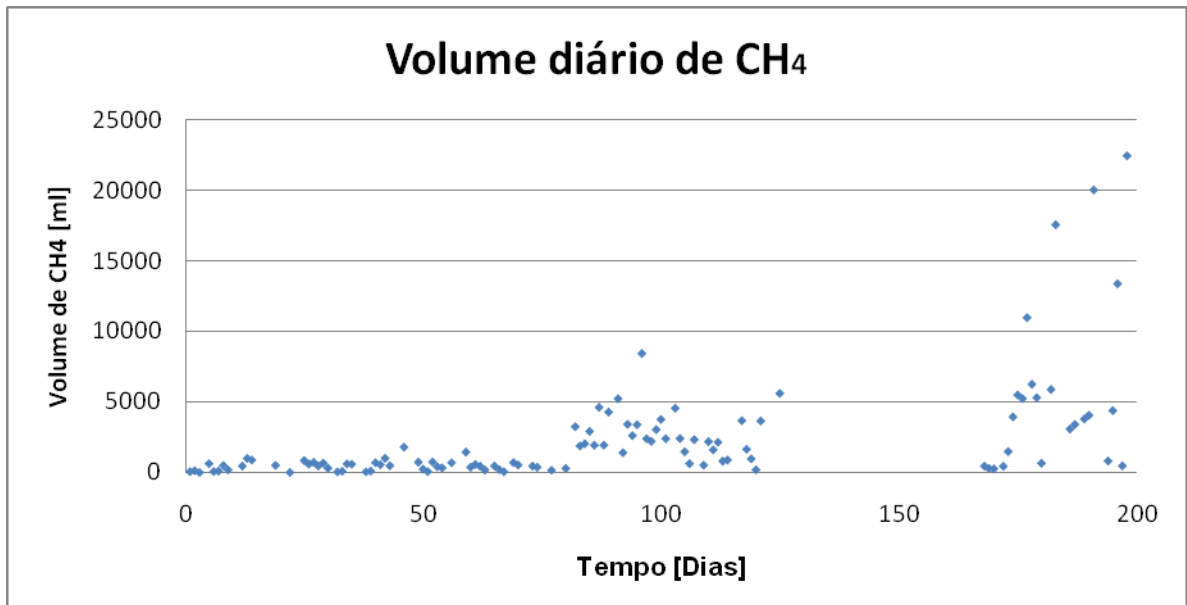


Figura 9 - Evolução do caudal de metano diário no reactor UASB.

Pela observação do gráfico pode visualizar-se que a produção de metano é intermitente, alternando em períodos de produção baixa que alternam com períodos de produção mais elevada.

O gráfico seguinte mostra a evolução do caudal de metano produzido ao longo do tempo do reactor UASB.

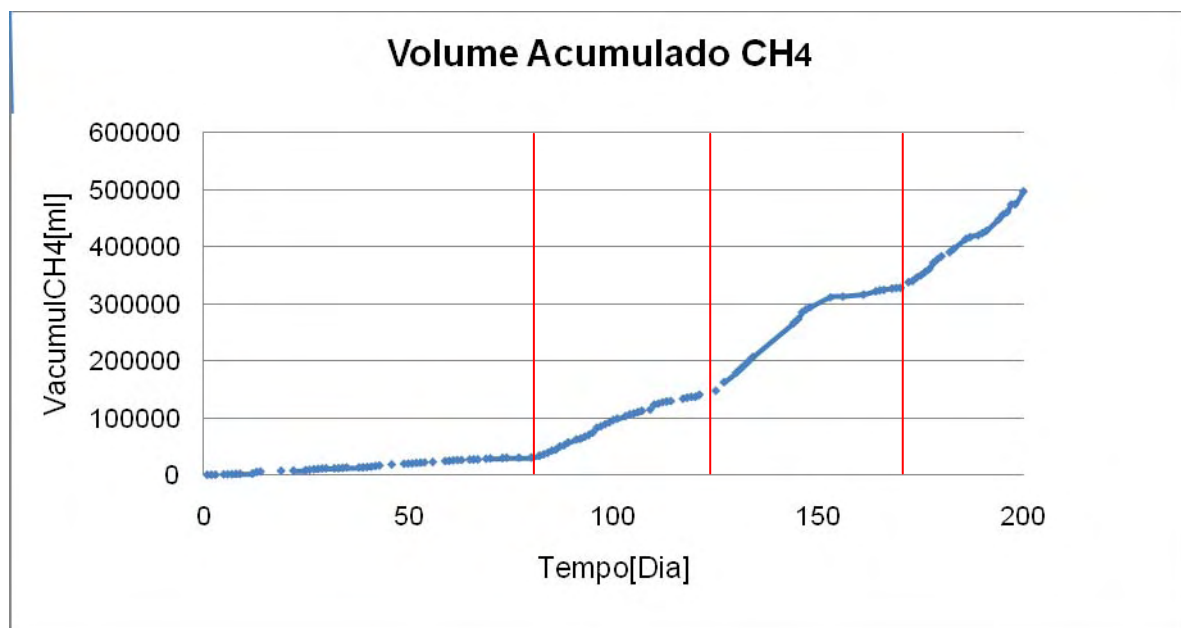


Figura 10 - Volume acumulado de  $\text{CH}_4$  produzido ao longo do tempo.

Pela observação do gráfico, figura 10, verifica-se que o reactor actuou de maneira diferente ao longo do tempo.

Pode dizer-se que o reactor reagiu por fases, sendo possível distinguir quatro fases distintas, segundo a produção de metano, que se encontram divididas pelas linhas vermelhas desenhadas no gráfico (figura 10). As fases distinguem-se uma das outras pelas diferentes produções de metano. Na primeira fase, de oitenta dias, observa-se pela análise do gráfico de metano acumulado, que o reactor praticamente não produz biogás, isso é visualizado através do declive praticamente nulo que a recta da primeira fase mostra. O volume médio de produção de metano na primeira fase foi de 0,44 l/d. A percentagem de metanização da primeira fase foi de 7,10%. Ou seja, é de crer que existe uma inibição por parte dos microorganismos quer acidogénicos quer metanogénicos como se depois se também se pode concluir com a comparação das produção de AOV's.



A partir do dia oitenta e um o reactor entra numa nova fase que dura até cerca do dia cento e vinte e cinco é de crer que começa a existir uma ligeira adaptação do reactor pois passa a existir produção de metano. O volume médio de produção de metano na segunda fase foi de 2,38 l/d A percentagem de metanização da segunda fase foi de 38,56%.

Foi feita em seguida uma interrupção no reactor, ao dia cento e vinte e cinco de quarenta e um dias, onde deixou-se de fornecer alimentação ao reactor. A paragem foi feita pois a produção de metano demonstrava que começava a abrandar depois daquele arranque inicial desta fase, como se pode ver pelo ligeiro patamar que se observa no gráfico antes da segunda barra vermelha que se vê no gráfico, figura 10. A acumulação de CQO decorrente até ao fim da paragem foi de 1674,15 g CQO.

O re-arranque do reactor com alimentação caracteriza o início da quarta e última fase, onde foi iniciado de novo uma produção no dia cento e sessenta e sete e que dura até ao final do arranque e onde houve produção de biogás. O volume médio de produção de metano da quarta fase foi de 7,05 l/d. A percentagem de metanização desta quarta e última fase é de 114,18%. Este valor acima dos 100% na última fase deve-se ao facto da matéria fornecida ao reactor ter ficado retida na biomassa sendo depois degradada e transformada em metano. Ou seja nesta última fase a toda matéria que se encontrava acumulada decorrente das fases anteriores foi toda degradada. Sendo por isso muito importante a paragem, pois foi o que permitiu que ocorresse uma adaptação da biomassa aos substratos mais complexos.

Esta divisão por fases é confirmada também pela produção de ácidos orgânicos voláteis onde foi possível demarcar a mesma divisão feita no gráfico de volume acumulado de metano.



O gráfico seguinte, figura 11, refere-se à evolução da concentração dos vários ácidos orgânicos como ácido acético.

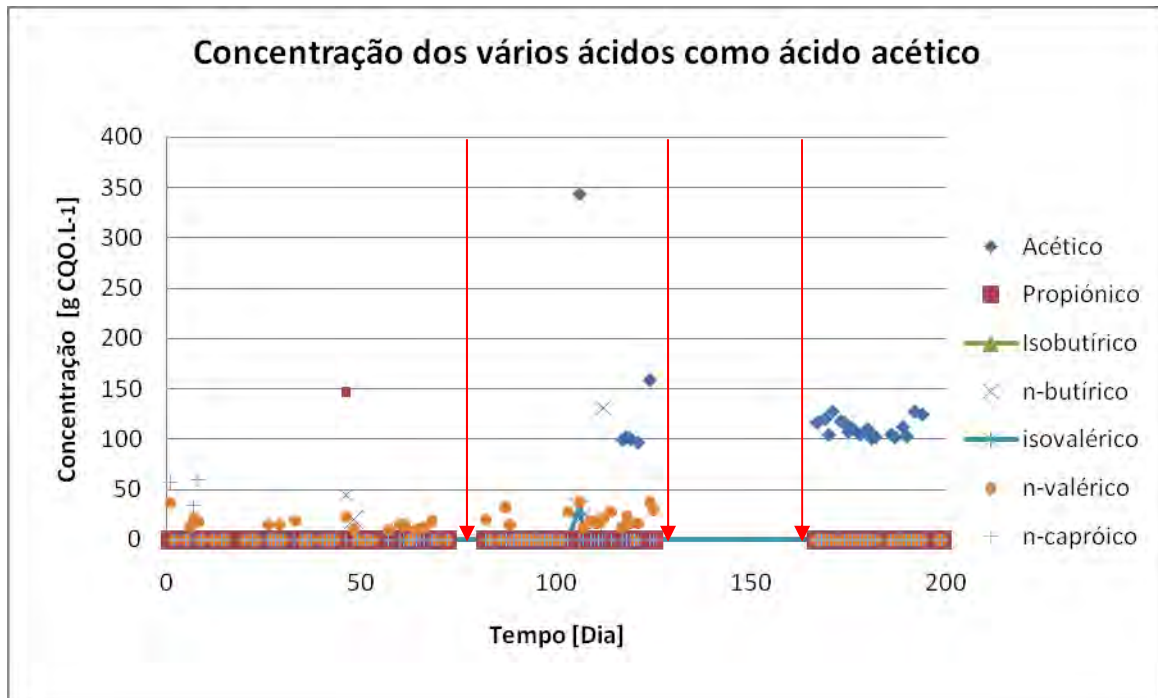


Figura 11 - Concentração dos vários ácidos em função do ácido acético.

Relativamente aos ácidos orgânicos voláteis calculados, como já foi referido, verificou-se que se pode fazer a mesma divisão aplicada ao gráfico de volume acumulado de metano. A divisão em cada uma dessas fases está ilustrada através das setas desenhadas no gráfico. A concentração média de ácidos orgânicos voláteis produzidos em cada um das respectivas fases foi de 0,05 [gCQO/l] na primeira fase e de 0,09 [gCQO/l] nas outras fases seguintes.

Mas tendo em conta o caudal diário fornecido ao reactor a concentração de ácidos orgânicos voláteis produzidos em cada um das respectivas fases foi de 0,55 [gCQO/d] na primeira fase e de 1,07 [gCQO/d] nas outras fases seguintes.

Verificou-se que durante toda a operação do reactor nunca ocorreu formação do ácido isobutírico,  $C_4H_8O_2$ , e que ocorreram poucas vezes e em baixas



concentrações os ácidos propiónico,  $C_3H_6O_2$ , n-butírico  $C_4H_8O_2$ , e n-capróico,  $C_6H_{10}O_2$ . Por sua vez o ácido n-valérico,  $C_5H_{10}O_2$ , foi o ácido mais produzido até ao dia oitenta e oito e a partir desse dia interrompeu a sua formação, só reiniciando aquando da formação do ácido acético,  $C_2H_4O_2$ . Por sua vez, o ácido acético não apresentou sinais de formação até ao início da segunda fase. Sendo que a partir da segunda fase o ácido acético teve uma grande produção em relação aos outros ácidos até ao fim da operação do reactor. O valor da soma mais alto obtido da concentração dos ácidos orgânicos voláteis como ácido acético foi de 433,414 [mg Ac.L<sup>-1</sup>]. Em termos de concentração de CQO o valor mais alto registado da soma dos ácidos orgânicos voláteis como ácido acético foi de 0,661 [g CQO.L<sup>-1</sup>].

Através da análise conjunta dos dois gráficos pode concluir-se que na primeira fase o reactor praticamente não produz biogás. A percentagem de metanização nesta fase foi de 7,10% e a percentagem acidificação foi de 2,86%.

No entanto, conclui-se pela análise do gráfico dos AOV's que a ausência de produção de biogás não é por causa da produção de AOV's em excesso. Pelo contrário, dado que dá a entender que o reactor não produz biogás exactamente pela ausência de produção de ácidos orgânicos voláteis. Conclui-se assim, que o reactor comporta-se de tal forma por estar inibido em termos de produção de ácidos orgânicos voláteis. Ou seja, existe uma inibição dos organismos acidogénicos.

Na segunda fase no dia noventa e sete passou-se a adicionar alcalinidade, bicarbonato de sódio,  $NaHCO_3$  e bicarbonato de potássio,  $KHCO_3$ , à alimentação. Essa adição à partida não teria influência na hidrólise mas sim influência nos organismos metanogénicos.

Verificou-se que após a paragem a produção de AOV's passou a ser quase só o ácido acético. A produção de n-valérico cessou o que se crê que o pH subiu.



Pois uma descida do pH aumenta a produção de ácido gordos voláteis de maior peso molecular (Grady et al, 1999) como é o caso do n-valérico. Segundo Albuquerque, com um pH, o ácido acético, o ácido propiónico são os produtos principais, enquanto na presença de um pH baixo os ácidos principalmente produzidos são o butírico e o valérico. (Albuquerque et al, 2007).

Neste trabalho verificou-se esta relação enunciada com as diferenças de produção entre o n-valérico e o ácido acético.

Como já for referido, a paragem fez com que houvesse uma adaptação deste à biomassa. Provavelmente a matéria fornecida ao reactor ficou retida na biomassa dentro do reactor sendo depois degradada e transformada em metano. Sendo por isso como já foi referido, a paragem de alimentação ao reactor uma medida muito importante, pois permitiu que ocorresse uma adaptação da biomassa aos substratos mais complexos. Logo, é necessário existir uma adaptação prévia da biomassa para que ocorra a produção de AOV's. Na quarta fase e após a paragem a acidificação verificada já foi de 33,07%.

Na primeira fase houve uma acumulação total de CQO de 1221,88 [g CQO] e na segunda fase uma acumulação de 454,56 [gCQO]. Já na última fase o reactor produziu biogás e não acumulou CQO, daí o valor negativo de -79,26 [g CQO], pelo contrário converteu o CQO correspondente à fase da paragem e ainda uma parte da fase anterior.





Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## 8. Conclusão



Actualmente é necessário ter uma atitude proactiva e consciente em relação aos problemas ambientais pois cada vez mais esta constitui uma atitude de carácter competitivo no sector industrial.

A indústria de lacticínios sofreu um grande impulso comercial a partir do momento em que foram desenvolvidos métodos de preservação do leite. Neste momento os sectores para produção de lacticínios apresentam um grande potencial poluidor.

Os programas preventivos podem reduzir a emissão do volume e da carga de efluentes, minimizando custos com o tratamento e podendo haver benefícios económicos com a recuperação de sólidos do leite e adaptação de processos para a reutilização de águas. Vários tipos de acções podem constituir atitudes preventivas para o sector de lacticínios, em contrapartida, os custos também são variados, podendo representar barreiras para a minimização de efluentes.

Este trabalho surge como um patamar nesta abordagem aos problemas ambientais de rentabilizar um resíduo, encarando-o como uma nova matéria-prima. Os efluentes industriais complexos contendo gordura, como é o caso da indústria de lacticínios, são um exemplo de como se pode reaproveitar um resíduo. Assim, este trabalho tendo como objectivo a produção de substratos com a composição correcta mais próxima possível com boas propriedades termoplásticas para a produção de biopolímeros utilizando um reactor UASB é mais uma ferramenta de sustentabilidade ambiental.

A operação do reactor UASB foi feita ao longo de duzentos dias operando de modo contínuo com uma carga constante de 5 [gCQO//dia].

Verificou-se que o reactor actuou de maneira diferente ao longo do tempo. Podendo dizer-se que o reactor reagiu por fases. Foi feita a divisão segundo a produção de metano onde foi possível dividir o processo de operação do reactor



em quatro fases distintas. As fases distinguem-se uma das outras pelas diferentes produções de metano.

A primeira fase caracterizou-se por uma inibição das bactérias acidogénicas. Verificou-se que, as bactérias acidogénicas mesmo sendo provenientes de uma indústria de lacticínios apresentavam inibição em relação à gordura do DAF. Concluí-se que o teor de gorduras presente nas lamas é aparentemente demasiado elevado e as bactérias acidogénicas foram inibidas.

Essa levou cerca de oitenta dias e o reactor praticamente não produziu biogás nem AOV's durante esse tempo. A percentagem de metanização nesta primeira fase foi de 7,10% e a percentagem de acidificação foi de 2,86%. É importante referir que o papel principal desta primeira fase, o arranque é não só proporcionar uma biomassa com boas capacidades de retenção mas também desenvolver uma mistura de bactérias equilibrada para que ocorra a degradação do substrato.

A partir dos oitenta dias de operação, iniciou-se a segunda fase que durou cerca de quarenta e cinco dias, concluiu-se que as bactérias acidogénicas deixam de estar inibidas, pois observou-se que existiu uma ligeira adaptação das bactérias acidogénicas, dado que passou a haver produção de metano e concomitantemente de ácidos orgânicos voláteis. A percentagem de metanização na segunda fase foi de 38,56% e de acidificação foi de 12,34%.

No entanto, no final da segunda fase começa-se a detectar uma paragem na produção de metano. Decidindo-se fazer uma paragem ao reactor de quarenta e um dias. Verificou-se uma acumulação significativa de substrato, e por isso a paragem teve como objectivo adaptar a biomassa à degradação do substrato mais complexo. Provavelmente a matéria fornecida ao reactor ficou retida na biomassa sendo depois degradada e transformada em metano. Sendo por isso muito importante a paragem, pois foi o que permitiu que ocorresse uma adaptação da biomassa aos substratos mais complexos.



Foi feito o re-arranque do reactor correspondendo esta à quarta e última fase, os últimos trinta e quatro dias, e onde as bactérias acidogénicas e metanogénicas deixaram de estar inibidas pois passou a existir produção de metano e produção de ácidos orgânicos voláteis. A percentagem de metanização nesta fase foi de 114,18% e a de acidificação de 33,07%. Este valor acima dos 100% na última fase resultou da matéria fornecida ao reactor ter ficado retida na biomassa sendo depois degradada e transformada em metano. Ou seja nesta última fase a toda matéria que se encontrava acumulada decorrente das fases anteriores foi toda degradada.

Caso não se tivesse terminado a operação do reactor deveria ir-se para uma quinta fase onde se inibiria a metanogénese. De maneira que a produção de ácidos orgânicos voláteis não fosse convertida em metano.

A formação de metano envolve formação de ácidos orgânicos voláteis, como ácido acético, ácidos propiónico e butírico dos hidratos de carbono por bactérias acidogénica (Yu e Pinder, 1993). Os ácidos orgânicos produzidos durante a operação do reactor vêm em parte suster a literatura. A maior produção de ácidos foi por contribuição do ácido acético e do ácido n-valérico, em momentos diferentes. Sendo a produção dos restantes ácidos vestigial em comparação com ácido acético e propiónico. Nunca ocorreu formação do ácido isobutírico, e ocorreram poucas vezes e em baixas concentrações os ácidos propiónico, n-butírico, e o n-capróico.

Em seguida, apresenta-se uma tabela resumo com os valores obtidos em cada uma das fases de operação do reactor. Foi feito um balanço mássico a todos os valores obtidos. Estes valores de conversão em CQO foram calculados com base no anexo D.



Tabela 5 - Valores obtidos em cada uma das fases de operação do reactor.

Fases	Dias	Volume [L/d]	Entrada [gCQO/d]	Saída [gCQO/d]	Retido [g CQO/d]	Acumulado [gCQO]	Metano [gCQO/d]	AOV [gCQO/d]	Metanização [%]	Acidificação [%]
1°	80	0,44	60,00	43,56	16,44	1221,88	1,167	0,55	7,10	2,86
2°	45	2,38	60,00	43,56	16,44	454,56	6,339	1,07	38,56	12,34
3°	41	Volume total produzido paragem	sem alimentar	Paragem						
		179,69	Acml 1674,15 g CQO							
4°	34	7,05	60,00	43,56	16,44	-79,26	18,77	1,07	114,18	33,07



Um estudo similar ao realizado a este trabalho, feito por YU para estudar o efeito de efluente de lacticínios no processo da acidificação mas utilizando um reactor Batch com as condições de pH 5,5 a 37°C e um TRH de 12h demonstraram que os hidratos de carbono são preferencialmente acidificados em relação às proteínas e aos lípidos. A produção de ácidos orgânicos voláteis especialmente os ácidos acético, propiónico e o butírico correspondem à acidificação dos hidratos de carbono enquanto, que a produção de álcoois nomeadamente de etanol e propanol correspondem à acidificação das proteínas. Os resultados demonstraram que a acidificação das proteínas ocorreu com o aumento de CQO presente no efluente. Talvez por se tratar de um reactor descontínuo permitiu que houvesse melhor adaptação do substrato ao meio.

Segundo YU, a diferente constituição dos ácidos possui grande influência na composição dos polímeros produzidos. Por exemplo, um aumento do hidrovalérico no PHAs melhora as capacidades térmicas e mecânicas do polímero. No estudo em causa o ácido mais produzido ao longo de toda a operação do reactor foi o ácido acético. Talvez aumentado a carga do efluente, resultados similares ocorram.

Como sugestões para trabalhos futuros talvez fosse proveitoso estudar a digestão anaérobica em duas fases. A digestão anaeróbica de duas fases é baseada na premissa de que as condições ambientais existentes na maioria dos digestores anaeróbicos de águas residuais não são as ideais para os microorganismos fermentativos e metanogénicos ao mesmo tempo. Devido às suas diferentes características de crescimento, não é possível a união de um único conjunto de condições de funcionamento do digestor que possa maximizar tanto o crescimento acidogénico bacteriano e a formação de metano. Condições que são favoráveis para o crescimento dos microorganismos fermentativos, tais como a TRH de curto e baixo pH são inibidoras formação de metano. Pohland e Ghosh, em 1971, propuseram pela primeira vez a separação fisicamente dos dois



principais grupos de microrganismos em reactores em série para fazer uso das diferenças de crescimento cinético de ambos os microorganismos.

Dado que os efluentes de lactícínios são ricos em gorduras e sabendo que a velocidade e a extensão da degradação de substâncias complexas como é o caso das gorduras e ácidos gordos aumenta como o aumento da temperatura, outra sugestão seria de optar-se o mesmo estudo mas escolhendo uma gama de temperaturas termofílica.

Concluindo, é necessário que se continuem a explorar várias formas de optimizações na produção de substratos para a produção de biopolímeros com boas propriedades termoplásticas que façam competição aos polímeros sintéticos existentes e diminuindo assim o consumo de combustíveis fósseis.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

## **9. Referências Bibliográficas**





Agência Europeia de Ambiente (1998), sistemas de Águas Residuais Urbanas - Um Guia Para Não especialistas.

Agro portal

Andrews, J.F. e Graeff, S.P., 1971 – Dynamic Modeling and Simulation of Anaerobic Digestion Process

Beccari, M., Dionisi, D., Guiliani, A., Majone, M., Ramadori, R., 2002. Effect of different carbon sources on aerobic storage by activated sludge. *Water Sci. Technol.* 45 (6), 157–168

Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., *Biology of microorganisms*, 7th Edition, Prentice- Hall International Editions, 1994

D. Dionisi, G. Carucci, F. Carrasco et al., 2004. Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers

Doi, Y., Kunioka, M., Nakamura, Y., Soag, K., 1987. Biosynthesis of copolyesters in *Alcaligenes eutrophus* H16 from <sup>13</sup>C-labelled acetate and propionate. *Macromolecular* 20, 2988 – 2991.

Fergala, M. 1995 - The anaerobic treatment of complex wastewater. Ph.D. Thesis. Van Hall Institute, Groningen, The Netherlands

Grady, C.P.L., Daigger, G.T; Lim, H.C; *Biological wastewater treatment*, 2nd edition; Marcel Dekker Inc, New York 1999

Gujer, W. e Zehnder, A.J.B. (1983) Conversion processes in anaerobic digestion, *Wat. Sci. Technol.* 15, 127-167.



Hwu, C.-S., 1997 - Enhancing anaerobic treatment of wastewaters containing oleic acid. Ph.DThesis, Agricultural University of Wageningen, Wageningen, The Netherlands.

INAG, Instituto Nacional da Agua

INE, Estatísticas Agro-Industriais; LEITE E DERIVADOS 1996-2000

Lee, S.Y., 1996. Bacterial polyhydroxyalcanoates. Biotechnol. Bioeng. 49(1), 1-14

Lettinga, G., 1996 - Sustainable integrated biological wastewater treatment. Water Science and Technology

Lettinga, G., 1995 Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. Antonie van Leeuwenhoek.

Nadais, H., Capela, I., Arroja, L., Duarte, A., 2001 Effects of organic, hydraulic and fat shocks on the performance of UASB reactors with intermittent operation. Water Sci.Technol

Nadais, H., 2001. Tratamento de efluentes de indústrias de lacticínios em reactores UASB com funcionamento intermitente

Machado, R.M.G; Freire, V. H; Silva, P.C; Figueiredo, D.V; Ferreira, P.E. Controle ambiental nas pequenas e médias indústrias de lacticínios, 2002

Minas Ambiente. Controle ambiental nas pequenas e médias indústrias de lacticínios

Mccarty, P.L. e Mosey, F.E., 1991 – Modelling of Anaerobic processes (a discussion of concepts)



Oliveira, J. S. Queijos: Fundamentos Tecnológicos, 1982

Perle, M. Kimchie, S. Shelef, G., Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater, *Water Research*, 29 (6), 1995

Poirier, Y., Nawrath, C., Somerville, C., 1995. Production of polyhydroxyalkanoates, a family of biodegradable plastics and elastomers, in bacteria and plants. *BioTechnology* 13, 142 – 150.

Sanderson, G. R; Clark, R. C. Laboratory produced microbial polysaccharide has many potencial food applications as a gelling, stabilizing and texturizing agent. *Food Technol.*, 37, p. 63-70, 1983.

Scamparini, A; Mariuzzo, D; Fujihara, H.; Jacobusi, R.; Vendruscolo, C. Structural studies of CV-70 polysaccharide. *J. Biolol. Macromol.*, 21, p. 115-121, 1997.

Standard Methods métodos indicados no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19<sup>th</sup> Edition, American Public Health Association/ American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, D.C., USA, 1995

Tchobanoglous, G. et all. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4<sup>a</sup> Edição internacional.ed. Nova Iorque: Metcalf & Eddy, Inc., 2003

Van Lier, J; Tilche, A; Ahring, B; Macarie, H.;et al. New perspectives in anaerobic digestion, *Water Science and Technology*, 43(1), 1-18,2001

Veysseyre, R., 1988 - *Lactologia Tecnica, Composicion, Recogida, Tratamiento y Tranformacion de la Leche*. Acribia, Zaragoza.



Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

Vidal, G., Carvalho, A., Mendez, R., Lema, J.M., Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters, *Bioresource Technology*, 74, 231-239, 2000

Wheatland, A., 1974 - Treatment of waste waters from dairies and dairy - product factories -methods and systems. *Journal of the Society of Dairy Technology*.

Yu, J., 2001. Production of PHA from starchy wastewater via organic acids, *Biotechnol.* 86, 105-112

Zeikus, J. G. Microbial populations in digestes, in: *Anaerobic digestion*, Stafford, D.A., Wheatley, B.I. Hughes, D.E. (eds), Applied Science Publishers, London, 1980



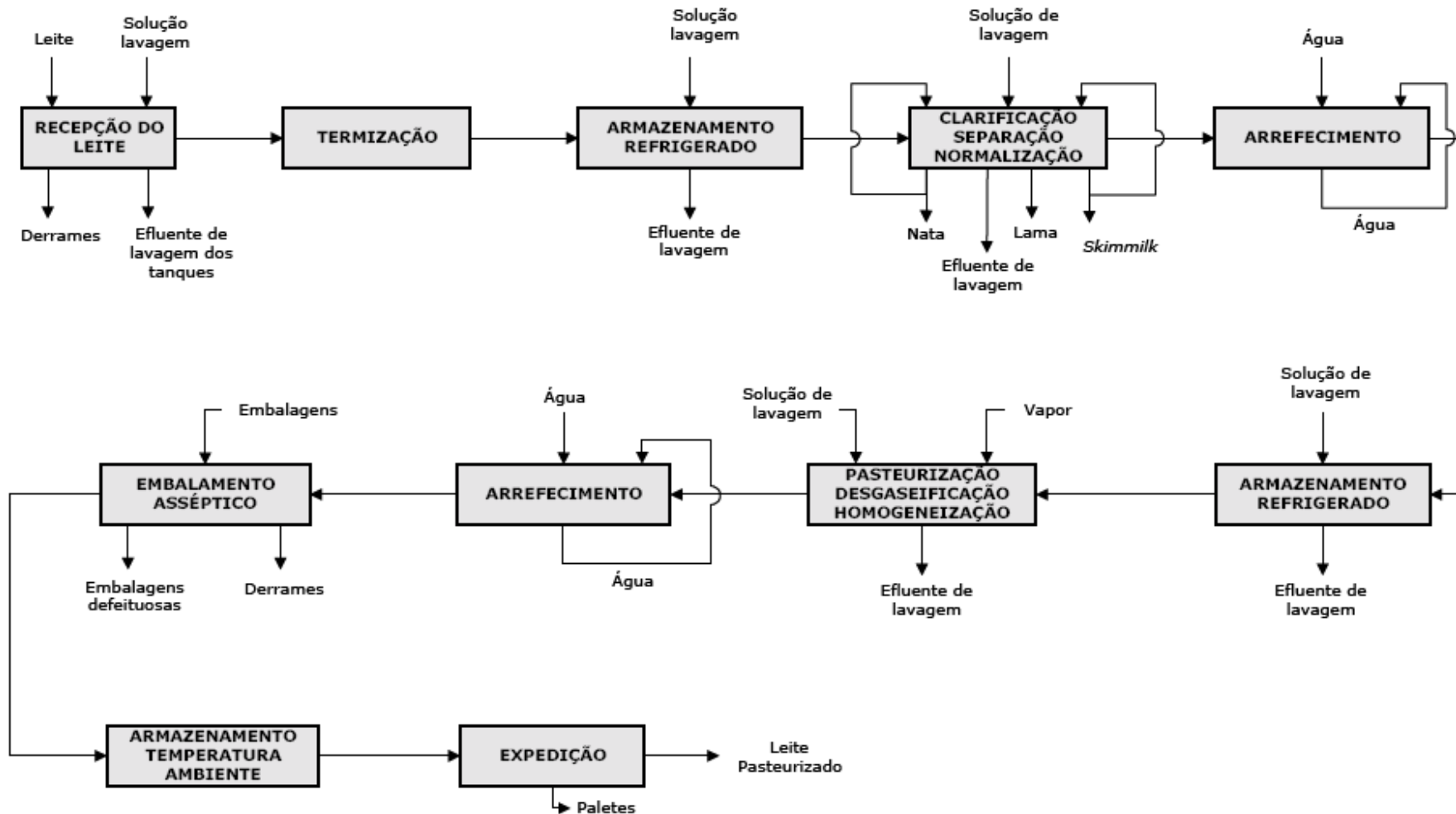
Universidade de Aveiro

**Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB**

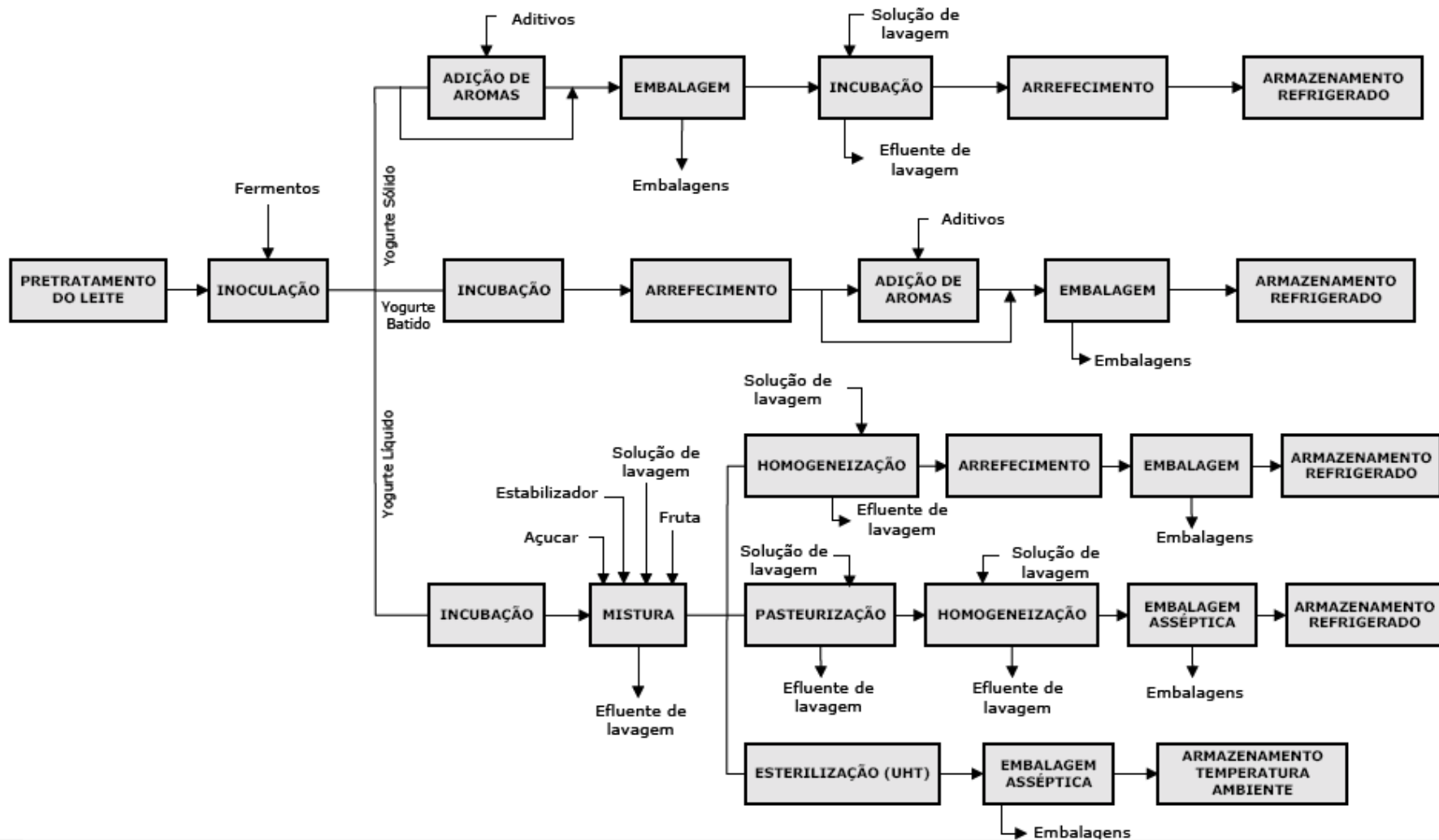
## 10. **Anexos**



Anexo A



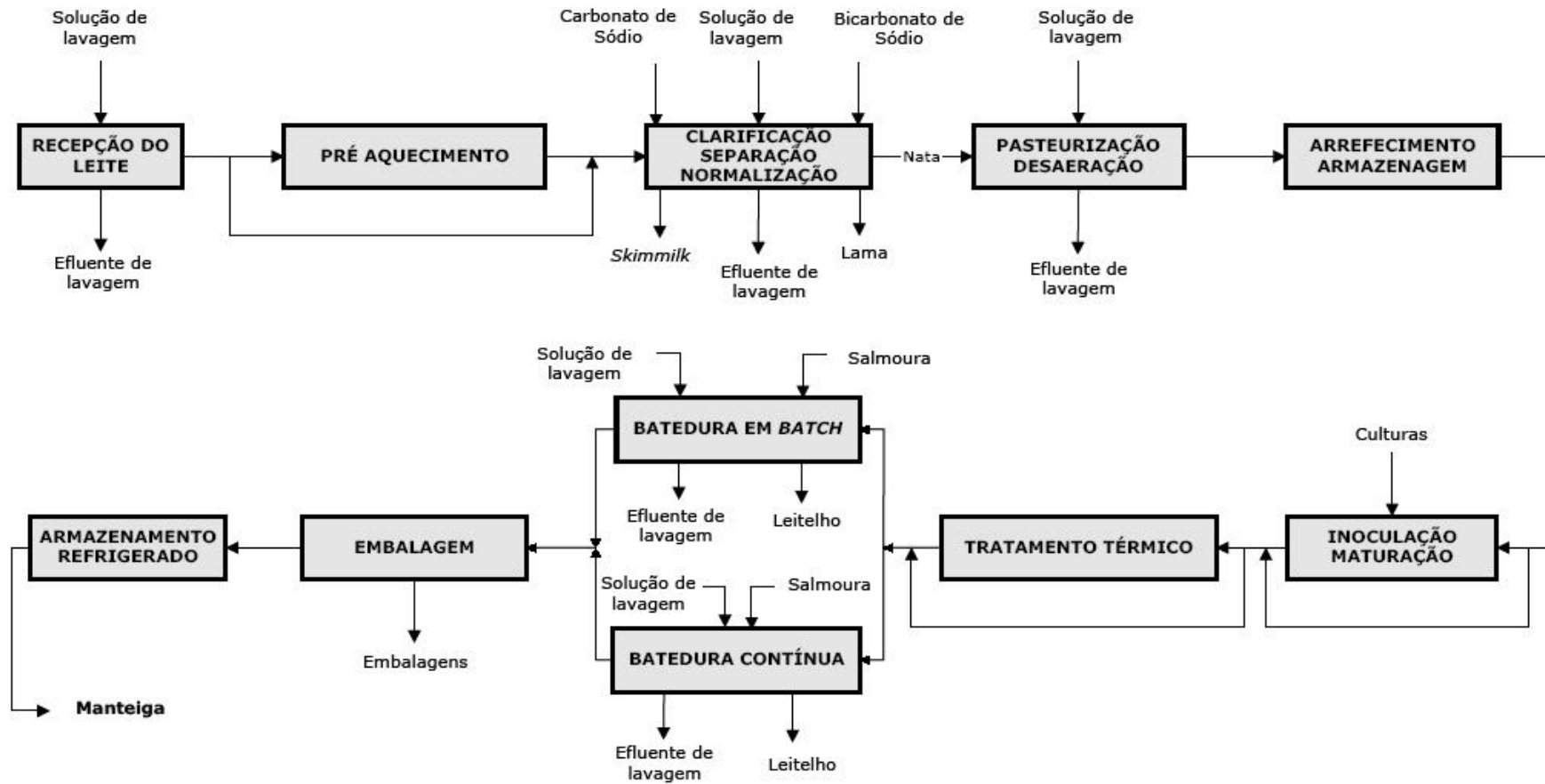
A1-Diagrama do processo de fabrico típico do leite. (Minas ambiente)



A2- Diagrama do processo de fabrico típico do iogurte. (Minas ambiente)



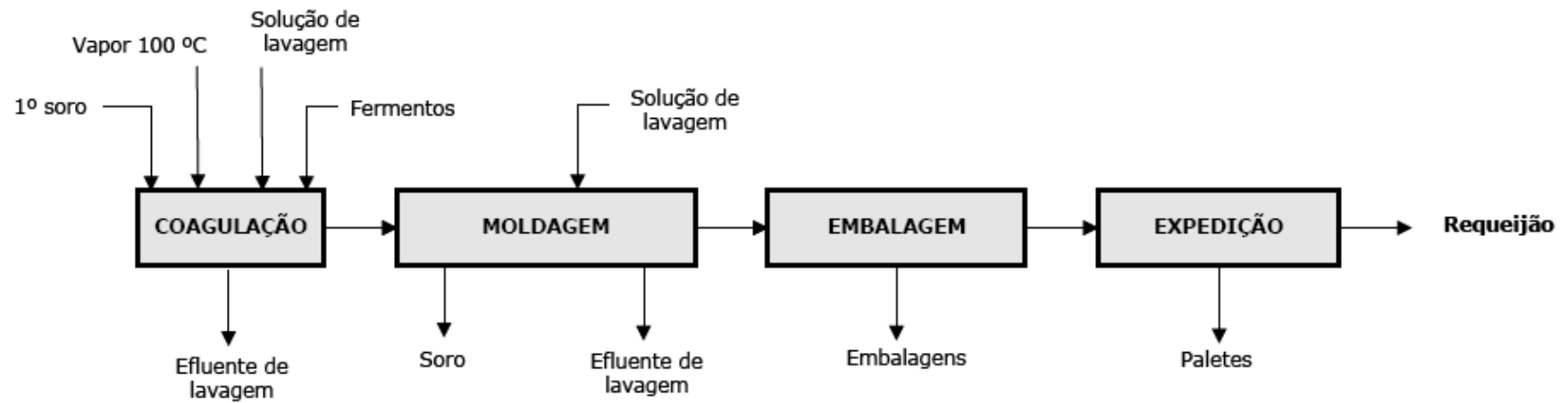
Universidade de Aveiro  
Substratos para a produção de biopolímeros utilizando UASB



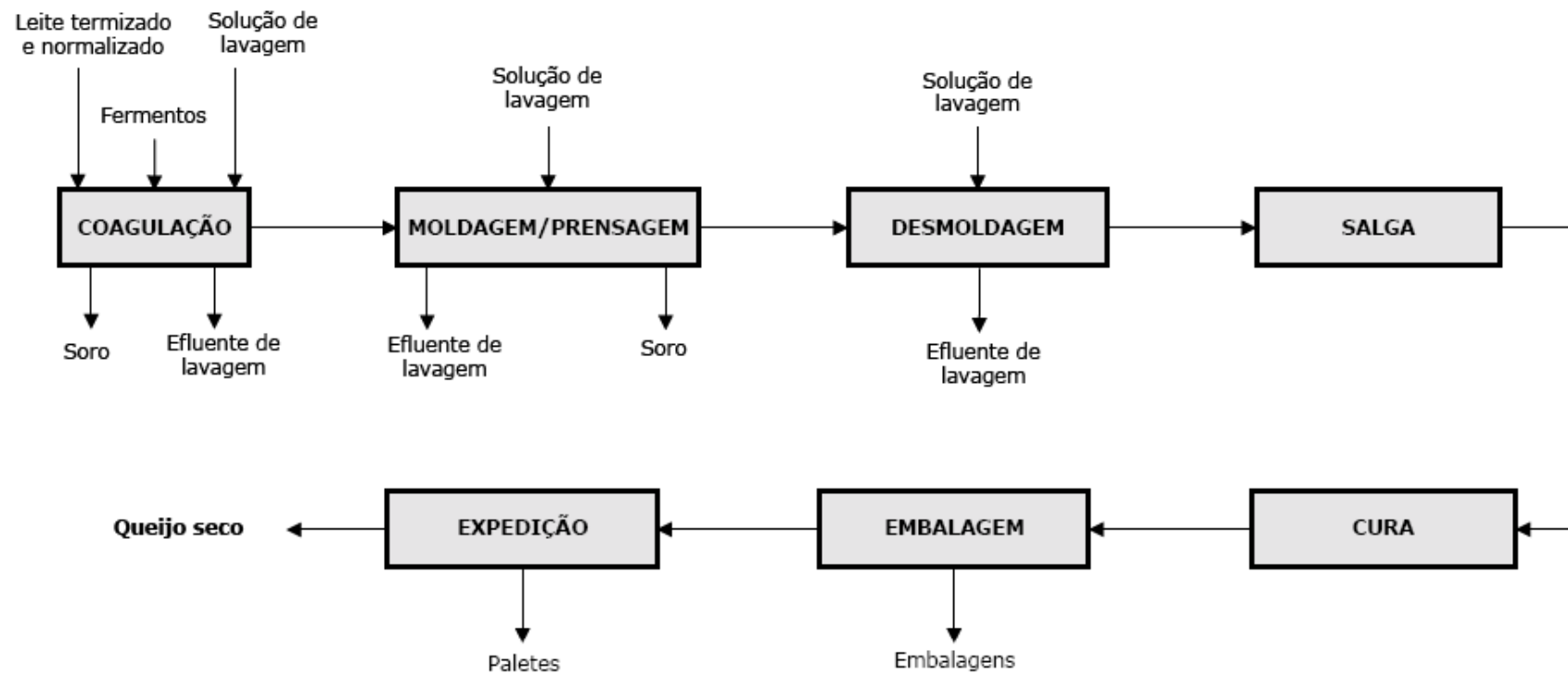
A3- Diagrama do processo de fabrico típico da manteiga.



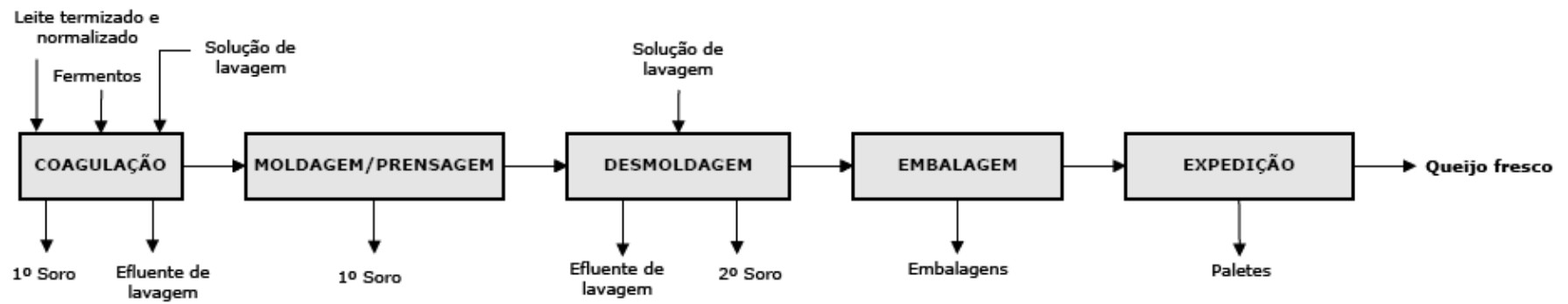




A5- Diagrama do processo de fabrico típico requeijão. (Minas ambiente)



A6-Diagrama do processo de fabrico típico do queijo seco. (Minas ambiente)



A7- Diagrama do processo de fabrico típico do queijo fresco. (Minas ambiente)



## Anexo B

Características do equipamento utilizado:

- Cromatógrafo a Gás

Chrompack 9001 C equipado com um detector de ionização de chama.

Coluna CP-sil5-CB com as seguintes dimensões: 25m x 0,53 mm x 5 µm.

O hélio foi o gás de arraste com um caudal de 8 ml/min.

A temperatura máxima da coluna foi de 290°C, a de injeção 270°C, e a do detector 300°C.

- Biogás

SRI8610C equipado com um detector TCD (Thermal Conductivity Detector)

Coluna Stainless Steel Packed Column, Haysep Q, 2,5mx2,1mm ID.

O hélio foi o gás de arraste com um caudal de 10 ml/min

A temperatura de corrida 60-61°C.



## Anexo C

Constituição das soluções de micro e macronutrientes adicionados.

Composto	Concentração [mg/l]
<b>Solução I - Micronutrientes</b>	
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2454
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2000
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{CuCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	30
$\text{ZnCl}_2$	50
$\text{H}_3\text{BO}_3$	50
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	90
EDTA	1000
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	50
<b>Solução II – Macronutrientes 1</b>	
$\text{NH}_4\text{Cl}$	170
$\text{KH}_4\text{PO}_4$	37
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8
$\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	9



## Anexo D

### – Balanço Mássico

Na conversão de CH<sub>4</sub> em CQO, foi adoptado o método de cálculo seguinte:

Assumindo que o CH<sub>4</sub> se comporta como um gás perfeito no espaço por ele ocupado no reactor e sem ter em consideração a pressão de vapor de água.

$$P \times V = n \times R \times T \quad D.1$$

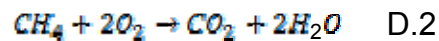
n= número de moles que ocupam o volume V à pressão P e temperatura T

V=1L

T=20°C ou 293.15 K

P=1 atm

A partir da equação C.1 vem n=0.041575moles



Pela equação D.2 vem que 1 mol de CH<sub>4</sub> corresponde a um CQO de 64 g

Logo 2,660795 g CQO/l CH<sub>4</sub>

Ou expresso em L CH<sub>4</sub>/g CQO → 0,375827 L CH<sub>4</sub>/g CQO.