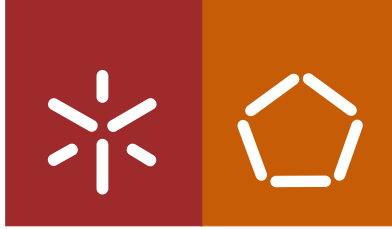




Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Sara Juliana Costa Pinto da Silva

Estudo da eficiência da codigestão de lamas de ETAR através da incorporação de lamas de ETA



Universidade do Minho

Escola de Engenharia

Sara Juliana Costa Pinto da Silva

**Estudo da eficiência da codigestão de
lamas de ETAR através da incorporação
de lamas de ETA**

Dissertação de Mestrado
Mestrado Integrado em Engenharia Biológica
Ramo Tecnologias Ambientais

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Madalena Alves
e do
Engenheiro Ivo Ribeiro

outubro de 2014

DECLARAÇÃO

Nome: Sara Juliana Costa Pinto Silva

Endereço eletrónico: sjuliana.pinto@gmail.com

Número do Bilhete de Identidade: 13929966

Título dissertação: Estudo da eficiência da codigestão de lamas de ETAR através da incorporação de lamas de ETA

Orientadores: Professora Doutora Madalena Alves; Engenheiro Ivo Ribeiro

Ano de conclusão: 2014

Designação do Mestrado: Mestrado Integrado Engenharia Biológica – Ramo Tecnologias Ambientais

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Universidade do Minho, ____/____/____

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Terminada esta etapa, resta-me agradecer a todas as pessoas que direta ou indiretamente intervieram ao longo de todo este processo, tornando possível o término desta dissertação.

À Doutora Madalena Alves, minha orientadora na universidade, pela paciência e por todos os ensinamentos que tanto me ajudaram na redação desta dissertação. Agradeço-lhe, também, por toda a ajuda prestada e pelas palavras amigas que nunca faltaram nos momentos de maior aperto.

Aos meus orientadores na empresa Luságua, Eng.º Ivo e Eng.ª Carolina, pela disponibilidade sempre demonstrada e pela boa receção que me proporcionaram. Agradeço também por me fazerem sentir parte da empresa e por me acompanharem nos momentos que mais precisei. A eles e a todas as pessoas da empresa, em especial ao Eng.º Cláudio, Eng.ª Ana e ao Joel, que tão bem me receberam e que sempre me ajudaram, muito obrigada. Deixo também um agradecimento à empresa Luságua, pela oportunidade de estágio que me proporcionou.

Ao Sr. Santos, pelos conhecimentos técnicos, e à Eng.ª Aline, pela ajuda, paciência e amizade demonstrada ao longo deste trabalho.

Aos meus colegas do grupo de investigação do LBA, em especial à Sónia, ao João e ao Zé, que durante 4 meses, foram não só meus companheiros de laboratório, como também uma fonte ajuda e apoio, nos momentos em que mais precisei. Pelos conhecimentos, pela ajuda e principalmente pelo ótimo acolhimento que me proporcionaram, muito obrigada.

Por fim, à minha família, pais, irmã, amigos e a todos os que me acompanharam nos bons e maus momentos, um agradecimento sentido. A vossa paciência, dedicação e todas as palavras de conforto, carinho e motivação nunca serão esquecidas.

A todos vocês, obrigada por tudo.

RESUMO

Ao longo desta dissertação de título “Estudo da eficiência da codigestão de lamas de ETAR através da incorporação de lamas de ETA”, desenvolveram-se metodologias de estudo, que tiveram como principal objetivo concluir sobre a viabilidade da incorporação de lamas de ETA em sistemas de digestão anaeróbia de lamas de ETAR.

Desta forma, começou-se por caracterizar o resíduo proveniente de ETA através da sua análise em ICP, testando-se posteriormente o seu efeito na atividade das bactérias acetoclásticas, através de um ensaio de toxicidade. Foram também realizados ensaios de biodegradabilidade, de forma a observar o efeito da incorporação de lama de ETA na globalidade do processo de digestão anaeróbia. Por fim, procedeu-se à análise em ICP do digerido obtido nos ensaios anteriores de forma a concluir sobre a sua aplicabilidade em solo agrícola.

Através da análise em ICP das lamas de ETA, foi possível concluir que os seus principais componentes são o Ca, o Mg e o Al. Por sua vez, segundo os resultados obtidos no ensaio de toxicidade, todas as concentrações testadas desta mesma lama (1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 g/L) apresentaram valores de atividade metanogénica superiores ao controlo, sendo que destas, a concentração de 5 g/L correspondeu ao máximo de produtividade obtido, sendo este valor cerca de 200% superior. Os ensaios de biodegradabilidade indicaram a mesma tendência, obtendo-se uma produtividade em metano superior para a grande maioria das concentrações de lama de ETA testada, quando comparadas com o controlo do ensaio. Estes resultados podem indicar que a presença de lama de ETA fomenta o fenómeno de sequestração mineral do CO₂ produzido, resultando num biogás com uma maior percentagem em metano e portanto mais limpo. A análise em ICP do composto digerido demonstrou que este possuía uma elevada concentração em Si e Ca. Dos metais pesados analisados, apenas o Hg ultrapassou os valores limite estipulados por lei, pelo que a sua aplicação em solos agrícolas poderá não ser viável.

Paralelamente, estudou-se o potencial metanogénico da digestão anaeróbia de duas lamas de ETAR de diferentes localidades da cidade de Braga, através de um novo ensaio de biodegradabilidade. Este demonstrou uma baixa produtividade devido, muito provavelmente, ao teor insuficiente em SV das lamas estudadas.

ABSTRACT

Throughout this thesis with the theme “Study of co-digestion efficiency of waste water treatment sludge through the incorporation of drinking water treatment sludge”, there were developed study methods, with the main goal to conclude about the viability of incorporation of DWTS in an anaerobic digestion system of WWTS.

Therefore, this work started by characterizing the DWTS through its analysis in ICP, followed by the testing of its incorporation, at different concentrations, in an environment where the acetoclastic bacteria activity took place. There were also performed biodegradability assays, where the effect caused by the presence of DWTS in the anaerobic digestion system was studied, by evaluating the methane production of its co-digestion with waste water treatment sludge in an anaerobic environment. Finally the digested resultant of this co-digestion was analysed through ICP.

The ICP analysis of the DWTS showed that the main elements found were Ca, Mg and Al. The results obtained by the toxicity assay showed that the methanogenic activity values to all the concentrations tested of DWTS (1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 g/L) were higher than the value obtained by the control (0 g/L). Additionally, the methanogenic activity to the concentration of 5g/L was the highest of all tested, with a superiority towards the control of 200%. The results obtained by biodegradability assays showed the same tendency, with a higher methane production, in general, to all the drinking water treatment sludge concentrations. This fact may be explained by the phenomenon of mineral sequestration of CO₂, caused by the presence of an alkaline silicate mineral- the drinking water treatment sludge. Therefore, the biogas produced is richer in methane. The digested, resultant of the biodegradability assays and tested in ICP, showed high concentrations of Si and Ca. However, according to the law, because of its high Hg concentration, it wouldn't be viable to use it in a farming soil.

Additionally, there was also performed another biodegradability assay to conclude about the methanogenic potential of two WWTS from two different locations from Braga city. This assay showed low productivity results, very probably, because of the low VS content of the sludge's tested.

ÍNDICE

Capítulo 1. Enquadramento geral, Objetivos e Estrutura da Dissertação	1
1.1. Enquadramento geral.....	2
1.2. A Luságua	4
1.3. Objetivos	5
1.4. Estrutura da dissertação.....	5
Capítulo 2. Revisão Bibliográfica	7
2.1. Substratos	8
2.1.1. Resíduos produzidos em estações de tratamento de água residual (ETAR).....	8
2.1.2. Resíduos produzidos em estações de tratamento de água (ETA).....	12
2.2. Métodos de estabilização de lamas de ETAR	15
2.3. Digestão anaeróbia	16
2.3.1. Hidrólise	19
2.3.2. Acidogénese.....	20
2.3.3. Acetogénese.....	22
2.3.4. Metanogénese	23
2.4. Tipos de digestão anaeróbia	24
2.5. Codigestão anaeróbia	25
2.6. Condições e variáveis que influenciam o processo de digestão anaeróbia	26
2.6.1. Temperatura.....	26
2.6.2. pH e capacidade tampão	28
2.6.3. Agitação.....	29
2.6.4. Nutrientes.....	29
2.6.5. Razão inóculo – substrato	31
2.6.6. Toxicidade e inibição.....	32
2.6.6.1. Amoníaco	33

2.6.6.3. Sulfato	34
2.6.6.4. Iões metálicos leves	34
2.6.6.5. Metais pesados	34
2.6.6.6. Compostos orgânicos	35
2.6.6.7. Compostos orgânicos e ácidos gordos de cadeia longa (AGCL).....	35
2.6.7. Tempo de retenção hidráulico e tempo de retenção de sólidos	35
2.6.8. Carga orgânica aplicada (ORL) / Sólidos voláteis (SV).....	36
Capítulo 3. Materiais, Métodos e Procedimentos Experimentais	37
3.1. Inóculos anaeróbios.....	38
3.2. Lamas de ETAR e ETA (substratos).....	40
3.3. Projeto experimental	41
3.3.1. Caracterização elementar das lamas de ETA	42
3.3.1.1. Digestão ácida.....	43
3.3.1.2. Caracterização da composição elementar por ICP.....	44
3.3.2. Caracterização elementar do composto digerido resultante dos ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETA com lamas de ETAR, por ICP.....	48
3.3.3. Ensaio de toxicidade de lamas de ETA.....	50
3.3.4. Ensaio de biodegradabilidade da codigestão de lamas de ETA com lamas de ETAR.....	52
3.3.5. Ensaio de biodegradabilidade de lamas de ETAR.....	55
3.4. Métodos analíticos.....	56
3.4.1. Carência Química em Oxigénio	56
3.4.2. Sólidos totais e Voláteis	57
Capítulo 4. Ensaio de biodegradabilidade de lamas de ETA com lamas de ETAR.....	59
4.1. Caracterização dos substratos.....	60
4.1.1. Caracterização da lama de ETA	60
4.1.1.1. Caracterização da lama de ETA nos parâmetros de CQO e sólidos.....	60

4.1.1.2. Caracterização elementar da lama de ETA por análise em ICP	61
4.2. Ensaio de toxicidade das lamas de ETA.....	62
4.3. Efeito da codigestão anaeróbia das lamas de ETA no potencial metanogénico	64
4.4. Caracterização elementar do composto digerido por ICP	74
Capítulo 5. Averiguação do potencial metanogénico de um sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR.....	77
5.1. Caracterização dos substratos.....	78
5.2. Potencial metanogénico do ensaio de biodegradabilidade de lamas de ETAR.....	78
Capítulo 6. Conclusões e recomendações	81
Bibliografia	85

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Composição física e química típica das lamas primária e ativada não tratadas adaptada da obra de (Metcalf & Eddy, 2002)	9
Tabela 2 – Valores para a composição elementar de lamas de ETA, obtidos por ICP-AES, para diferentes tipos de lamas de ETA, tendo em conta a composição do coagulante utilizado, segundo (Townsend et al., 2001)	14
Tabela 3 – Reações acidogénicas com sacarose como substrato e a correspondente variação na energia livre de Gibbs (ΔG°) a 25 °C (Henze et al., 2008)	21
Tabela 4 – Valores médios para as propriedades cinéticas das bactérias acidogénicas e das bactérias metanogénicas, adaptados de (Henze et al., 2008).....	22
Tabela 5 – Para cada via de produção de metano na etapa de metanogénese: as reações mais importantes e a sua variação de energia livre de Gibbs (ΔG°) e alguns parâmetros cinéticos (Henze et al., 2008).....	24
Tabela 6 – Substâncias com potencial para causar inibição biológica no processo de digestão anaeróbia, retirado de (Wilson et al., 2006)	32
Tabela 7 – Valores dos parâmetros utilizados na digestão das lamas de ETA, sendo que o parâmetro TAP consiste no tempo necessário para o alcance da pressão pretendida e <i>Time</i> consiste no período de tempo a que esta pressão deverá ser mantida depois do seu alcance	44
Tabela 8 – Para cada elemento estudado apresenta-se o reagente utilizado para execução das curvas padrão, a respetiva a massa adicionada e o comprimento de onda estudado no ICP	48
Tabela 9 – Descrição do meio básico anaeróbio, adaptado de (Angelidaki & Sanders, 2004)	53
Tabela 10 – Caracterização elementar da lama de ETA obtida por ICP- MS, sendo que a quantificação de cada elemento é feita em massa (μg) por massa de lama desidratada (g) (à exceção dos elementos Al, P, Mg e Fe cujas concentrações de apresentam nas unidades mg/g).....	62
Tabela 11 – Resultados experimentais obtidos no final do primeiro ensaio de biodegradabilidade da codigestão de lama de ETAR com lama de ETA	66

Tabela 12 – Resultados experimentais obtidos no final do segundo ensaio de biodegradabilidade de lama de ETAR com lama de ETA	69
Tabela 13 - Caracterização elementar, obtido por ICP-MS, do composto digerido obtido nos ensaios de biodegradabilidade da codigestão de lamas de ETAR com lamas de ETA. A quantificação de cada elemento é feita em massa (µg) por massa (g) de digerido (à exceção dos elementos Si, P, Mg e Ca cujas concentrações de apresentam nas unidades mg/ g).....	75
Tabela 14 - Caracterização das lamas utilizadas como substratos nos ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETAR, relativamente à sua CQO e ao teor em sólidos totais e voláteis.....	78

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 – Representação esquemática do processo de degradação anaeróbia de lamas ativadas em excesso (e outros materiais orgânicos) (Haandel & Lubbe, 2007).	19
Ilustração 2 – Esquema sequencial das etapas do projeto experimental para a avaliação da incorporação de lamas de ETA num sistema de digestão anaeróbio de lamas de ETAR.	42
Ilustração 3 – Gráfico dos parâmetros de tempo, pressão e temperatura, a utilizar numa digestão ácida de solos, sedimentos, ou lamas, retirada do método 3025 “Micro wave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices”.	43
Ilustração 4 – Esquema das diluições efetuadas para as curvas de calibração.	45
Ilustração 5 – Figura esquemática de um equipamento de espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICP-MS) adaptado de (Ribeiro, 2005).	46
Ilustração 6 - Imagens das curvas de calibração e picos obtidos por ICP.	47
Ilustração 7 – Sugestão para a representação dos ensaios de biodegradabilidade, adaptado de (Angelidaki & Sanders, 2004).	52
Ilustração 8 – Gráfico obtido para o ensaio de toxidade das lamas de ETA que relaciona a atividade (em %) obtida para as diferentes concentrações de lama de ETA. A reta a vermelho representa a atividade de 100% obtida para o controlo do ensaio.	63
Ilustração 9 – Gráfico correspondente ao volume máximo de CH ₄ produzido por massa de SV de lama de ETAR adicionados, para cada concentração de lama de ETA testada, obtidos para o primeiro ensaio de biodegradabilidade realizado.	65
Ilustração 10 – Gráfico correspondente ao volume máximo de CH ₄ produzido por massa de SV de lama de ETAR adicionados, para cada concentração de lama de ETA testada, obtidos para o segundo ensaio de biodegradabilidade realizado.	68
Ilustração 11 – Apresentação esquemática da sequestração estequiométrica de CO ₂ no processo de digestão anaeróbia (Salek et al., 2013).	73

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCL	Ácidos Gordos de Cadeia Longa
AGV	Ácidos gordos voláteis
Al	Alumínio
AM	Atividade metanogénica - Volume de metano produzido nas condições PTN dividido pela massa de SV adicionado e pelo tempo decorrido
As	Arsénio
BMP _{SV}	<i>Biochemical Methane Potential</i> – Volume de metano produzido por massa de SV adicionado
BMP _{CQO}	<i>Biochemical Methane Potential</i> – Volume de metano produzido por massa de CQO adicionado
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
Ca	Cálcio
CaCO ₃ ⁻	Carbonato de Cálcio
CaO	Óxido de cálcio
Cd	Cádmio
CH ₄	Metano
Co	Cobalto
CO ₂	Dióxido de carbono
COD	<i>Chemical Oxygen Demand</i>
CQO	Carência Química de Oxigénio
CQO _{solúvel}	Carência Química de Oxigénio Solúvel
Cr	Crómio
DA	Digestão anaeróbia
DWTS	<i>Drinking Water Treatment Sludge</i>
ETA	Estação de tratamento de água
ETAR	Estação de tratamento de água residual
Fe	Ferro
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>

H ₂	Hidrogénio
HAc	Acetato ou Ácido Acético
Hg	Mercúrio
HNO ₃ ⁻	Ácido Nítrico
HPO ₄ ⁻	Fosfato de Hidrogénio
H ₂ S	Sulfureto de hidrogénio
Na	Sódio
NH ₃	Amoníaco
NH ₄ ⁺	Catão Amónio
Ni	Níquel
ICP (-MS)	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
K	Potássio
K ₂ O	Óxido de Potássio
K _s	Constante de Saturação ou Monod
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
N	Azoto
ORL	<i>Organic Rate Load</i>
P	Fósforo
P ₂ O ₅	Pentóxido de fósforo
Pb	Chumbo
PM	Percentagem Metanização
PS	Percentagem Solubilização
PTN	Pressão e Temperatura Normais

PMT	Fotomultiplicadores
Si	Silício
SiO ₂	Dióxido de Silício
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
T _d	Tempo Duplicação
TiO ₂	Dióxido de Titânio
TRH	Tempo de Retenção Hidráulico
TRS	Tempo de Retenção de Sólidos
μ_{Max}	Taxa Específica de Crescimento Máxima
VLE	Valor Limite de Emissão
WWTP	<i>Waste Water Treatment Plant</i>
Y	Taxa de Crescimento Microbiano
Zn	Zinco
°ΔG	Variação da Energia Livre de Gibbs

Capítulo 1. | Enquadramento geral, Objetivos e Estrutura da Dissertação

- 1.1.** Enquadramento geral
- 1.2.** A Luságua
- 1.3.** Objetivos
- 1.4.** Estrutura da dissertação

Neste capítulo, apresenta-se o enquadramento geral, juntamente com a apresentação da empresa na qual o estágio decorreu, a Luságua S.A. Serviços Ambientais. Por fim, são apresentados também os objetivos e a estrutura desta dissertação.

1.1. Enquadramento geral

O crescente desenvolvimento industrial, económico e populacional tem como uma das principais consequências o aumento do uso de recursos, sejam eles hídricos, energéticos ou outros. A grande maioria destes recursos é considerada não renovável ou finita, uma vez que o seu tempo de regeneração é bastante superior à sua taxa de consumo.

Este facto constitui uma grande preocupação mundial, sendo necessário o desenvolvimento de métodos que permitam o seu uso de forma sustentável, tornando-os disponíveis para gerações futuras.

A água, cuja presença é reconhecida cientificamente por ser um fator limitante à existência de vida na Terra, ocupa cerca de 71% da superfície terrestre. No entanto, do

volume total de água existente no planeta, 97% é salgada, sendo que apenas a porção restante (3%) preenche os requisitos que permitem o seu consumo direto pelo ser humano (Pinheiro et al., 2009).

Do total de água doce existente no planeta, parte encontra-se em estado sólido retida nos glaciares, sendo portanto inacessível. O restante, em estado líquido, está distribuído por locais subterrâneos, lagos e rios (Pinheiro et al., 2009).

Segundo o *site Statistics Portal*, é espectável um aumento global da utilização de recursos hídricos em cerca de 2650 km³ desde o ano 2010 até ao ano de 2030 (Statista, 2014).

A intensa exploração deste recurso de forma a satisfazer as necessidades de uma população cada vez mais numerosa (em 2050, prevê-se um crescimento populacional em cerca de 30%, perfazendo um total de 9.55 milhões de pessoas no mundo) e dos avanços tecnológicos tem provocado ao longo do tempo uma diminuição significativa na porção de água doce existente no mundo, degradando-a e contaminando-a a uma velocidade alarmante (Statista, 2014).

A água é utilizada para vários fins, entre eles domésticos, agrícolas, industriais e municipais constituindo um bem essencial e imprescindível na sociedade.

De forma a tornar seguro o consumo da água captada nos meios hídricos, é necessária a existência de infraestruturas, denominadas de estações de tratamento de água (ETA) que englobem todos os processos físicos e químicos necessários ao tratamento da água, tornando-a apta para consumo.

Após a sua utilização, a água, denominada de água residual, é encaminhada, através de redes de saneamento, para instalações próprias (ETAR) que irão realizar o seu tratamento e descontaminação através de processos físicos, químicos e biológicos, permitindo a sua devolução segura aos meios hídricos.

Ambas as estações de tratamento de água, tanto a captada como a residual, englobam várias etapas de tratamento, cujos processos produzem resíduos, comumente denominados de lamas e aos quais existe a necessidade de dar um fim adequado.

O crescente consumo de água tem como consequências óbvias o aumento do volume de água captada diariamente, assim como a produção de maiores volumes de água residual, cujos tratamentos originam, analogamente, quantidades cada vez maiores de resíduos.

Desta forma, torna-se essencial a procura novas estratégias e metodologias que permitam o encaminhamento destes resíduos para fins ambientalmente sustentáveis como é o caso, por exemplo, do seu reaproveitamento para fins energéticos através do processo de digestão anaeróbia.

Apesar de já ser usual a aplicação de um sistema anaeróbio para a estabilização de lamas de ETAR, pretende estudar-se agora o efeito da introdução neste sistema de uma porção de lamas de ETA, sendo que estas últimas, apesar de variados estudos para a sua incorporação em alguns materiais de construção (ex. cimentos, tijolos) têm tido como destino maioritário, a deposição em aterro sanitário, devido à sua composição em componentes considerados perigosos, como por exemplo, metais pesados.

1.2. A Luságua

O grupo Aquapor/Luságua, fundado em 1987, é uma das principais empresas que atuam no mercado de Gestão de Concessões Municipais e Prestações de Serviços de abastecimento de água e de saneamento de águas residuais, tendo sede nos países Portugal, Angola e Moçambique.

Esta empresa é responsável pela recolha de resíduos e limpeza urbana em cidades como Braga, Tarouca, Águeda e Estarreja, tendo no total cerca de 380 300 clientes de abastecimento de água e 305 400 clientes de saneamento. O volume de água distribuída/abastecida desde o início do funcionamento desta empresa perfaz um total de 54.1 milhões de m³, por sua vez, o volume de efluente recolhido para tratamento no mesmo período de tempo perfaz um total de 121 milhões de m³.

A política de gestão de resíduos urbanos desta empresa reside numa política de prioridades, sendo esta descriminada de forma decrescente em seguida: redução e separação na origem, reutilização e valorização e por fim reciclagem e eliminação.

Relativamente às lamas geradas no tratamento da água abastecida e de saneamento, o grupo Aquapor/Luságua tem implementadas várias medidas de valorização destes resíduos, nomeadamente valorização energética com produção de biogás para aquecimento de lamas e produção de energia e o aproveitamento agrícola das mesmas com recurso a um sistema compostagem, como é o caso da ETAR de Parada na Maia.

Num total, a Luságua gere cerca de 166 ETAR e 27 ETA espalhadas por todo o país, sendo consequentemente responsável pelas lamas produzidas em 59 destas instalações.

No ano de 2012, a Luságua produziu um total de 49 766,33 toneladas de lamas e cerca 52 664,40 toneladas no primeiro semestre de 2013.

1.3. Objetivos

No âmbito da tese de mestrado e por iniciativa da empresa Luságua, esta dissertação tem como objetivo avaliar o efeito da incorporação de lamas de ETA, num sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR. Para tal, realizou-se um estudo à toxicidade das lamas de ETA, nas bactérias acetoclásticas, avaliando posteriormente o seu efeito em todo o processo de digestão anaeróbia através de testes de biodegradabilidade da codigestão deste tipo de lamas com lamas de ETAR. No final deste ensaio, o composto digerido foi analisado em ICP, de forma a avaliar uma possível aplicação agrícola.

Por fim, esta tese teve também como objetivo o estudo da viabilidade na implementação de um sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR, realizando para isso um ensaio de biodegradabilidade de duas lamas de ETAR diferentes.

1.4. Estrutura da dissertação

No presente capítulo (capítulo 1) é feito um enquadramento geral ao tema que será desenvolvido ao longo desta dissertação, dando-se alguma ênfase à empresa na qual foi desenvolvido o projeto e descrevendo-se por fim, quais os objetivos a alcançar com este tema. No capítulo 2, é feita uma contextualização científica da temática desenvolvida nesta tese, tendo em conta o conhecimento bibliográfico disponível.

No capítulo 3 são descritos todos os materiais, métodos e procedimentos experimentais utilizados no âmbito desta dissertação, abrangendo todas as metodologias utilizadas para os ensaios realizados e todos os métodos analíticos utilizados para monitorização dos mesmos.

No capítulo 4, são apresentados e discutidos os resultados referentes à caracterização elementar das lamas de ETA por ICP e à sua introdução em meio anaeróbio através de ensaios de toxicidade e biodegradabilidade. Por fim e no mesmo capítulo são também apresentados os resultados obtidos para a caracterização do digerido resultante

dos ensaios de biodegradabilidade, através da sua análise em ICP, sendo brevemente discutida a possibilidade da sua aplicação em solos agrícolas.

No capítulo 5 estão discriminados e posteriormente analisados, os resultados referentes ao ensaio de biodegradabilidade da digestão anaeróbia de duas lamas de ETAR diferentes.

Por fim, no capítulo 6, encontram-se as principais conclusões e recomendações para futuros trabalhos, sobre o tema desenvolvido ao longo desta tese.

Capítulo 2. | Revisão

Bibliográfica

- 2.1. Substratos
- 2.2. Métodos de estabilização de lamas de ETAR
- 2.3. Digestão anaeróbia
- 2.4. Tipos de digestão anaeróbia
- 2.5. Codigestão anaeróbia
- 2.6. Condições e variáveis que influenciam o processo de digestão anaeróbia

Neste capítulo, apresenta-se uma revisão geral da literatura científica recente, no que diz respeito ao processo de digestão anaeróbia e às suas aplicações tendo em conta os substratos em estudo. Inicialmente, é feito um levantamento das características teóricas, obtidas em estudos científicos para cada substrato, juntamente com algumas aplicações se existentes, relativamente ao processo de digestão anaeróbia. Seguidamente, é feita uma revisão dos processos metabólicos que fazem parte do processo de digestão anaeróbia, sendo esta prosseguida por uma revisão geral do estado de arte no que diz respeito à aplicação de tratamentos de codigestão anaeróbia tendo em conta os seus benefícios e resultados obtidos, em estudos científicos. Por fim, procede-se a uma revisão das condições de operação, abordando-se também, outras variáveis que possam ter influência no processo de digestão anaeróbia.

2.1. Substratos

2.1.1. Resíduos produzidos em estações de tratamento de água residual (ETAR)

Uma estação de tratamento de água residual (ETAR) engloba todos os processos necessários para o seu tratamento, garantindo que aquando do seu lançamento ao meio hídrico, esta esteja em conformidade com as leis aplicáveis, ou seja, que cumpra os valores limite de emissão (VLE) de águas residuais explícitos no anexo XVIII do decreto-lei nº236/98 de 01-08-1998 (Ministério do Ambiente, 1998).

Uma ETAR possui várias etapas de tratamento tendo em conta os parâmetros físicos, químicos, biológicos e o volume do efluente a tratar.

Ao longo da linha de tratamento, nas etapas de sedimentação primária e secundária, ocorre a remoção dos sólidos suspensos contidos no efluente, por ação gravítica. Esta porção sedimentada, denominada de lamas, é posteriormente recolhida e o efluente segue para a próxima etapa de tratamento. Desta forma, as lamas consistem numa mistura de água, matéria inorgânica e orgânica e outros materiais removidos da água durante o seu tratamento, provenientes de várias fontes (sobretudo de esgotos domésticos e indústrias), podendo também, conter outros materiais comumente encontrados nas estradas ou em ruas pavimentadas e que acabam por ser arrastados pelas águas (Usman et al., 2012).

Na tabela 1 encontram-se algumas características típicas para os dois tipos de lama originados numa ETAR. Tal como é possível observar, estas lamas, para além de possuírem elevadas concentrações em matéria orgânica, possuem também concentrações interessantes de nutrientes como fósforo e azoto, o que torna a sua aplicação em solos agrícolas como fertilizante, muito promissora. No entanto, esta aplicabilidade tem as suas limitações, devido não só, ao conteúdo em metais pesados que estas lamas apresentam, como também ao elevado teor em microrganismos patogénicos, o que torna o seu uso como fertilizante, não só inadequado como perigoso à saúde humana (Usman et al., 2012).

Tabela 1 – Composição física e química típica das lamas primária e ativada não tratadas adaptada da obra de (Metcalf & Eddy, 2002)

Parâmetro	Unidades	Lama primária não tratada	Lama ativada não tratada
Sólidos totais	%	5 a 9	0,8 a 1,2
Sólidos voláteis	% ST	60 a 80	59 a 88
Óleos e gorduras			
<i>Solúveis em éter</i>	% ST	6 a 30	-
<i>Não solúveis em éter</i>	% ST	7 a 35	5 a 12
Proteínas	% ST	20 a 30	32 a 41
Azoto	N, % ST	1,5 a 4	2,4 a 5,0
Fósforo	P ₂ O ₅ , % ST	0,8 a 2,8	2,8 a 11
Potássio	K ₂ O, % ST	0 a 1	0,5 a 0,7
Celulose	% ST	8 a 15	-
Sílica	SiO ₂ , % ST	15 a 20	-
Ferro	(exceto sufitos)	2 a 4	-
pH		5 a 8	6,5 a 8
Alcalinidade	mg/L em CaCO ₃	500 a 1500	580 a 1100
Ácidos orgânicos	mg/L em Hac	200 a 2000	19000 a 23000
Conteúdo energético	kJ /kg	23 000 a 29000	19000 a 23000
Arsénico ⁽¹⁾	mg/kg	1,1 a 230	
Cádmio ⁽¹⁾	mg/kg	1 a 3410	
Crómio ⁽¹⁾	mg/kg	10 a 99000	
Cobalto ⁽¹⁾	mg/kg	11,3 a 2490	
Cobre ⁽¹⁾	mg/kg	84 a 17000	
Ferro ⁽¹⁾	mg/kg	1000 a 154000	
Chumbo ⁽¹⁾	mg/kg	13 a 26000	
Manganês ⁽¹⁾	mg/kg	32 a 9870	
Mercúrio ⁽¹⁾	mg/kg	0,6 a 56	
Níquel ⁽¹⁾	mg/kg	2 a 5300	
Zinco ⁽¹⁾	mg/kg	101 a 49000	

(1) Valores típicos respetivos ao conteúdo em metais pesados determinados para os sólidos totais provenientes do tratamento de águas residuais, em massa de elemento (metal pesado) por massa de ST.

No seu estado bruto, a lama gerada pelos processos de tratamento de água residual é bastante instável e contém elevadas quantidades de água pelo que, antes do seu envio

para o destino final, são necessárias etapas de espessamento e desidratação de forma a tornar as lamas mais espessas e com um maior teor em sólidos.

Por outro lado e relativamente à problemática da instabilidade das lamas no seu estado bruto, existem vários processos que podem ser aplicados para alcançar a estabilização, como por exemplo, a digestão anaeróbia, a compostagem ou a secagem termal. Adicionalmente, estes processos atuam também de uma forma eficaz na redução dos agentes patogénicos, devido à sua operação a temperaturas elevadas (Nilsson & Dahlstrom, 2005).

Dos processos de estabilização existentes, o processo mais praticado é a digestão anaeróbia uma vez que esta permite a produção de energia sob forma de biogás, através do consumo e consequente redução da matéria orgânica existente nas lamas, contribuindo também e tal como já foi mencionado, para uma redução no teor em agentes patogénicos. Assim, a aplicação deste processo, está associada a vários benefícios, entre eles, a redução no volume de lama que será enviado para o destino final, o que representa um menor custo para as empresas, aquando da eliminação deste resíduo (Appels et al., 2008).

Por outro lado, este processo é também largamente utilizado como pré-tratamento da lama para que esta possa ser aplicada de forma segura como fertilizante em solos agrícolas.

Em grande parte dos sistemas de digestão anaeróbia implantados, a lama proveniente de uma ETAR é digerida sozinha. No entanto, este tipo de lamas, em particular as lamas ativadas, é constituído por matéria orgânica difícil de degradar, sendo que do total de matéria orgânica existente nestas lamas, apenas entre 30 a 45% é digerível em reatores anaeróbios convencionais, o que torna o alcance da estabilidade, um processo demorado. Assim, a difícil digestão destas lamas, origina baixas taxas de solubilização e maiores tempos de retenção, o que se traduz na necessidade de um reator com um volume maior (Navaneethan, 2007).

Existem vários procedimentos para aumentar a eficácia da digestão anaeróbia de lamas de ETAR, como por exemplo, o seu pré-tratamento. Este tem como funcionalidade o aumento da digestibilidade das lamas de ETAR através de métodos físicos, químicos, térmicos ou biológicos, promovendo o rompimento das paredes celulares e membranas e

permitindo que a matéria intra e extra celular, seja dissolvida na fase aquosa, estando assim mais facilmente disponível para o processo de degradação anaeróbia (Navaneethan, 2007).

Outra forma de aumentar a eficácia da digestão anaeróbia de lamas de ETAR e à qual será dada mais ênfase é a codigestão. Este processo consiste, numa forma muito resumida, na digestão de lamas de ETAR com outros materiais, denominados de co substratos.

O uso de co substratos está a tornar-se uma prática cada vez mais usual, uma vez que esta apresenta, de uma forma geral, maiores rendimentos energéticos (pois permite obter maiores percentagens de CH₄ no biogás produzido), podendo também satisfazer algumas das necessidades nutricionais existentes (fornecendo amoníaco, azoto, potássio, fósforo, cálcio e magnésio) e até diluir compostos que podem ser inibitórios, contribuindo assim, para a estabilização do processo de digestão (Neczaj et al., 2012).

Ao longo desta dissertação, foram utilizadas como substrato, num dos ensaios realizados, lamas mistas provenientes do caudal de alimentação de um reator anaeróbio, localizado na ETAR de Espinho no Porto. Por fim, para o último ensaio realizado, foram utilizadas duas lamas, também mistas, de duas ETAR de diferentes localidades da região de Braga.

2.1.2. Resíduos produzidos em estações de tratamento de água (ETA)

As estações de tratamento de água são instalações construídas com o propósito de tratar a água captada dos meios hídricos, tornando-a apta para o consumo humano.

Para isso, a água é sujeita a várias etapas de tratamento, que consistem sobretudo na remoção de sólidos e outros componentes perigosos à saúde humana e na sua desinfecção, através da eliminação de agentes patogénicos.

Ao longo da linha de tratamento da água, ocorre a geração de resíduos sólidos, denominados de lamas, constituídos pelos sólidos existentes na água de lavagem dos filtros e pelo decantado removido nas etapas de decantação.

Estas lamas são essencialmente químicas, contendo não só os componentes retirados da água nas etapas de filtração e decantação como também todos os componentes químicos adicionados para o facilitamento destas mesmas etapas como agentes coagulantes e floculantes.

Assim, as lamas produzidas numa estação de tratamento de água possuem de uma forma geral, hidróxidos de alumínio e ferro (uma vez que os compostos coagulantes têm, normalmente, na sua composição alumínio ou ferro), matéria orgânica dissolvida e/ou coloidal e sólidos minerais como argila e outros materiais silicatados (ex. fragmentos minerais, fragmentos de rocha e areias) (Verlicchi & Masotti, 2012).

Na tabela 2, é possível observar alguns dados bibliográficos relativos à composição das lamas de ETA, tendo em conta a composição do coagulante utilizado em alumínio, ferro ou cal.

Na ausência de destinos eficientes e ambientalmente sustentáveis para este tipo de lama, devido a uma variedade de componentes minerais, químicos e outros considerados perigosos como é o caso dos metais pesados, torna-se necessária a procura de novas metodologias que permitam o tratamento e reaproveitamento, se possível, deste tipo de lamas.

Segundo o estado da arte, não existem estudos divulgados sobre sistemas de tratamento biológico para este tipo de lamas, sendo que a procura de metodologias para

o seu reaproveitamento, consiste sobretudo em estudos para a aplicação destas lamas em estações de tratamento de água, incorporação em bio solos para aterros sanitários e a sua aplicação em materiais de construção como tijolos e cimento, havendo também alguns estudos para avaliar a viabilidade na aplicação destas lamas em solos agrícolas (Kyncl, 2008).

Num estudo realizado por (Ferreira, 2010), que avalia a viabilidade da incorporação das lamas de ETA numa pasta cerâmica, foi possível observar que esta incorporação piora ligeiramente as propriedades avaliadas, sendo ainda assim, viável uma vez que os parâmetros se mantiveram dentro dos limites aceitáveis para a construção de materiais cerâmicos, em particular do tijolo. Por outro lado, segundo (Gonçalves et al., 2004), a incorporação de lamas de ETA na manufatura de argamassa de cimento, apenas pode ser viável se esta sofrer um pré-aquecimento a uma temperatura não inferior a 450 °C, o que pode implicar, numa primeira fase, um maior período de tempo para atingir a rigidez do cimento, podendo também resultar numa diminuição da sua força mecânica.

Existem, também, benefícios na adição deste tipo de lamas em diferentes etapas de um sistema de tratamento de águas residuais, devido sobretudo à capacidade de adsorção dos agentes coagulantes contidos nas mesmas.

Segundo (Kyncl, 2008), a adição de lamas de ETA obtidas pela utilização de um coagulante de ferro, quando adicionadas no tratamento de águas residuais, fomenta a união de sulfitos, minimizando assim o cheiro e a corrosão provocada pelos mesmos. Por outro lado, quando adicionadas num tanque de lamas ativadas, as lamas de ETA promovem a remoção dos fosfatos constituintes da água residual por adsorção, evitando assim, a necessidade de um reagente para esse efeito. Por fim, a sua adição nas etapas de decantação e desidratação pode potenciar um melhoramento na eficácia das mesmas. Outro estudo realizado por (Yang et al., 2006), demonstrou que a lama de ETA desidratada e obtida pela utilização de um coagulante de alumínio pode, à semelhança do estudo anterior, ser aplicada para o tratamento de águas residuais, também para a remoção de fósforo, devido à sua capacidade de adsorção. Para além disso, foi também possível concluir que o pH é um fator importante na capacidade de adsorção da lama sendo que

esta variou, em massa de fósforo por massa de lama de ETA adicionada, de 0,7 mg /g para 3,5 mg/g, conforme a crescente acidificação do meio.

As lamas utilizadas no âmbito desta dissertação foram obtidas através da adição de agentes coagulantes com alumínio, sendo cedidas pela estação de tratamento de água de Braga, pertencente à empresa AGERE-EM, situada na Ponte do Bico.

Tabela 2 – Valores para a composição elementar de lamas de ETA, obtidos por ICP-AES, para diferentes tipos de lamas de ETA, tendo em conta a composição do coagulante utilizado, segundo (Townsend et al., 2001)

Tipo lama de ETA (tendo em conta a composição coagulante utilizado)				
Elemento	Unidades	Alumínio	Ferro	Cal
Alumínio	mg/kg	142 ± 26	4,38 ± 1,54	1,78 ± 3,11
Árgon	mg/kg	11,3 ± 3,5	7,04 ± 4,43	1,15 ± 1,28
Bário	mg/kg	84,9 ± 29,7	95,7 ± 21,2	58,8 ± 45,5
Cádmio	mg/kg	Não detetado	Não detetado	Não detetado
Crómio	mg/kg	121 ± 45	34,4 ± 17,4	3,20 ± 3,30
Cobre	mg/kg	32 ± 21	154 ± 224	6,36 ± 8,27
Ferro	mg/kg	10,6 ± 5,2	365 ± 177	2,96 ± 3,63
Chumbo	mg/kg	5,71 ± 3,88	3,11 ± 1,72	Não detetado
Manganês	mg/kg	83,3 ± 45,5	228 ± 318	47,3 ± 37,4
Magnésio	mg/kg	Não detetado	Não detetado	Não detetado
Níquel	mg/kg	8,30 ± 3,49	26,0 ± 25,8	1,70 ± 2,40
Sódio	mg/kg	650 ± 456	172 ± 97	609 ± 860
Zinco	mg/kg	19,4 ± 4,9	18,6 ± 13,3	7,85 ± 4,77
CaO	% peso seco	0,59	24,9	Não detetado
SiO ₂ ⁽²⁾	% peso seco	13,5	13,2	Não detetado
P ₂ O ₅ ⁽²⁾	% peso seco	7,98	0,21	Não detetado
TiO ₂ ⁽²⁾	% peso seco	0,18	0,08	Não detetado
K ₂ O ⁽²⁾	% peso seco	2,13	0,66	Não detetado

⁽²⁾ Valores obtidos por (Ferreira, 2010), através da técnica de fluorescência de raios-X.

2.2. Métodos de estabilização de lamas de ETAR

As lamas geradas como resultado do tratamento de águas são enviadas para diferentes destinos, dependendo das suas características, sendo que a decisão final reside sempre na empresa responsável pelas instalações de tratamento.

Regra geral, as lamas possuem um elevado teor em matéria orgânica e nutrientes, como o azoto e o fósforo, constituindo um agente enriquecedor de solos agrícolas. Assim, um dos destinos finais preferenciais destes resíduos é a sua aplicação como fertilizante. No entanto, a sua aplicação para este fim está condicionada a forte legislação, o que não só dificulta a escolha deste destino pelas empresas responsáveis como também restringe imenso a quantidade de lamas que preenchem os requisitos necessários (Bresters et al., 1997).

As lamas podem também ser encaminhadas para compostagem, que surge como um dos métodos de estabilização biológica de lamas, através da degradação aeróbia de matéria orgânica, contribuindo paralelamente para a diminuição do teor em água existente (Bresters et al., 1997).

Por outro lado, outro dos métodos possíveis de estabilização das lamas e também o mais utilizado, consiste na digestão anaeróbia, ou seja na decomposição da matéria orgânica através da ação de bactérias anaeróbias, tendo como produto final uma mistura gasosa de metano e de dióxido de carbono, denominada de biogás (Garg, 2009).

No entanto, apesar das alternativas de valorização existentes, o envio das lamas para aterro sanitário após a sua desidratação, continua a ser o destino preferencial, ainda que este não constitua uma solução ambientalmente sustentável.

2.3. Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um fenómeno biológico, levado a cabo por um grupo de bactérias anaeróbias, que ocorre de forma natural, em ambientes caracterizados pela ausência de oxigénio. Consiste na degradação e conversão da matéria orgânica numa mistura gasosa de CH₄ (55 a 75% vol.), CO₂ (25 a 45% vol.) e outros componentes gasosos em quantidades vestigiais, denominada de biogás (Mes et al., 2003).

Atualmente, este processo é largamente aplicado para o tratamento de vários tipos de resíduos orgânicos, como águas residuais, lamas provenientes de ETAR e resíduos sólidos urbanos, uma vez se trata de um processo tecnologicamente simples, apresentando baixos gastos energéticos (Mes et al., 2003). Por outro lado, a aplicação deste processo permite obter um resíduo final estabilizado no que diz respeito ao teor em matéria orgânica, inodoro e com um volume final consideravelmente menor uma vez que a fração de sólidos volátil é convertida em biogás. Para além disso, o digerido possui um grande potencial agrícola uma vez que este tratamento é também responsável por uma redução do número de patogénicos, tornando o composto resultante mais higienizado. Por outro lado, o digerido possui na sua composição alguns compostos que podem ser utilizados como nutrientes, como é o caso de amoníaco (para obter azoto) (Wilson et al., 2006).

Historicamente, o processo de digestão anaeróbia mostra-se como uma tecnologia antiga, no entanto, a sua industrialização apenas acontece no ano de 1895, em Bombay, onde foi construída a primeira estação de digestão anaeróbia. Neste período, o biogás recuperado era utilizado para fornecer energia às lâmpadas de rua em Exeter, Inglaterra. No ano de 1930, um grupo de investigação liderado por Buswell, identificou as bactérias anaeróbias responsáveis por este processo, assim como as condições que promovem a produção do biogás (Monnet, 2003).

Com um melhor conhecimento desta tecnologia e dos benefícios resultantes da sua aplicação, os equipamentos foram se tornando mais sofisticados, emergindo também novas técnicas operacionais. Após uma alargada investigação sobre este processo, foi possível concluir que a aplicação de reatores fechados, com aquecimento e agitação é o tipo de tecnologia que mais otimiza o processo de digestão anaeróbia. No entanto, apesar dos avanços nesta tecnologia, esta acabou por ser posta um pouco de parte, devido ao

desenvolvimento dos tratamentos aeróbios e do preço reduzido dos combustíveis fósseis como petróleo e carvão. Assim, a implementação de sistemas de digestão anaeróbia passou a ter uma maior ênfase em países em desenvolvimento como a Índia e a China, devido ao facto de ser uma alternativa de saneamento, relativamente simples e com benefícios energéticos. No entanto, devido à instabilidade operacional destes sistemas (Chen et al., 2007), muitas das tentativas de implementação desta tecnologia, foram dadas como falhadas (Monnet, 2003).

Atualmente, devido ao aumento dos preços dos combustíveis fósseis e às restrições das regulamentações ambientais, os países europeus têm sofrido mais pressões para explorarem esta tecnologia. Assim, na Europa e até aos dias de hoje, existem cerca de 600 digestores de produtos agrícolas, sendo que existem estações de digestão anaeróbia que estão em funcionamento há mais de 20 anos. Para além disso, o desenvolvimento desta tecnologia na Europa, faz com que esta possua os maiores sistemas centralizados de digestão anaeróbia do mundo (Monnet, 2003).

Para que a digestão anaeróbia seja estável, existe a necessidade que as conversões biológicas dos vários compostos intervenientes estejam bem agrupadas durante o processo, evitando a acumulação de compostos intermediários. Ou seja, a conversão eficiente de matéria orgânica em metano, depende sempre da atividade do consórcio microbiano e da sua capacidade em converter os produtos produzidos na etapa anterior em novos produtos. Desta forma, o resultado final da degradação da matéria biodegradável contida no resíduo será um composto rico em produtos como metano, dióxido de carbono, sulfato de hidrogénio, amoníaco, etc., sem concentrações significativas de outros compostos intermediários (Szucs et al., 2012).

De uma forma geral, a condição mais importante para uma aplicação eficiente da digestão anaeróbia num reator batch, consiste no estabelecimento de um balanço entre a produção de ácidos e a produção de metano (Szucs et al., 2012). Isto porque, um aumento na concentração de ácidos gordos voláteis, produzidos durante a etapa metabólica de acidogénese, provoca uma diminuição do pH do meio, pelo que, nestas condições não é possível a ocorrência da metanogénese. Por sua vez, a não-ocorrência desta etapa provoca uma descida ainda mais acentuada do pH, criando um ambiente hostil às bactérias existentes, podendo provocar a sua morte (Mes et al., 2003).

Tal como é possível observar na ilustração 1, o processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em quatro etapas metabólicas: hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese, sendo que cada etapa é levada a cabo por diferentes grupos de bactérias (Mes et al., 2003).

Na etapa da hidrólise, moléculas orgânicas complexas não-solúveis, como as proteínas, a celulose, os lípidos entre outras, são degradadas, formando moléculas mais pequenas, dando origem a compostos orgânicos solúveis em fase aquosa.

A etapa metabólica que se segue é a acidogénese. Nesta etapa, os compostos orgânicos solúveis formados anteriormente, são convertidos através de processos bioquímicos, em ácidos gordos voláteis e dióxido de carbono. Seguidamente, na etapa da acetogénese, as bactérias acetogénicas convertem os ácidos gordos voláteis formados na etapa anterior em acetato, hidrogénio e dióxido de carbono. Por fim, na metanogénese, existem duas vias diferentes para a produção de metano. Na primeira via, a produção de metano pode ocorrer através do consumo do acetato pelas bactérias acetoclásticas, enquanto que na segunda via, ocorre a produção de metano através da redução do dióxido de carbono com hidrogénio. Apesar de ambas ocorrem no processo de digestão anaeróbia, é através da primeira via que ocorre a principal produção de metano, devido às quantidades limitadas de hidrogénio existentes no meio (Wilson et al., 2006; Monnet, 2003).

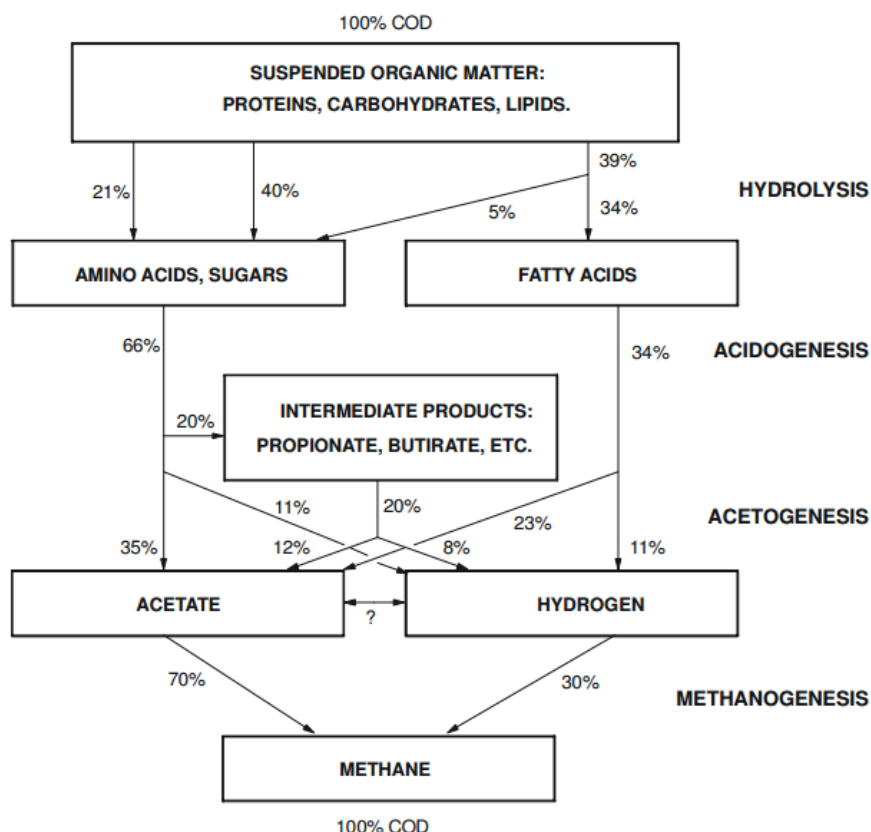


Ilustração 1 – Representação esquemática do processo de degradação anaeróbica de lamas ativadas em excesso (e outros materiais orgânicos) (Haandel & Lubbe, 2007).

2.3.1. Hidrólise

A primeira etapa do processo de degradação anaeróbica e também a mais lenta é a hidrólise (Mes et al., 2003). Nesta etapa, ocorre a degradação da matéria orgânica insolúvel existente no composto a digerir, para que esta possa ser convertida nos compostos que serão consumidos na etapa seguinte. Uma vez que se trata de matéria insolúvel e que, portanto, não consegue atravessar a parede celular e membranas das bactérias fermentativas, torna-se necessário que estas excretem enzimas para o exterior, denominadas de exo-enzimas, que irão converter material orgânico e insolúvel, em compostos menos complexos e solúveis, capazes de atravessar as membranas e a parede celular (Henze et al., 2008). A equação 1 representa a formação da glucose, sendo esta a reação química mais importante desta etapa metabólica (Korres et al., 2013).



Durante esta etapa, as proteínas são hidrolisadas em aminoácidos, os polissacarídeos são hidrolisados em açúcares simples e os lípidos são hidrolisados em ácidos gordos de cadeia longa, sendo que este processo é extremamente sensível à temperatura e a variações da mesma. Por outro lado, muitas das vezes, esta é a etapa limitante de todo o processo de digestão anaeróbia de substratos complexos, não por falta de exo-enzimas que degradem os compostos, mas sim por falta de área de superfície de contacto e também devido à própria estrutura do substrato sólido (Henze et al., 2008). Este facto é observável, aquando da degradação anaeróbia de lamas de ETAR, cuja composição em compostos complexos e difíceis de degradar, torna a etapa da hidrólise biológica a mais lenta de todo o processo (Navaneethan, 2007).

Assim, o *design* do reator necessário para a digestão anaeróbia de um determinado resíduo e as respetivas condições de digestão a aplicar são muitas vezes determinados pelas características desta fase (Henze et al., 2008).

2.3.2. Acidogénese

A fase da acidogénese é a fase mais rápida de todo o processo de digestão anaeróbia e ocorre no interior das bactérias fermentativas ou acidogénicas, aquando da entrada por difusão dos compostos formados na etapa anterior (Henze et al., 2008).

A acidogénese é uma reação bastante comum, sendo que de todas as bactérias conhecidas, cerca de 1% são capazes de a promover, sendo por isso denominadas de bactérias fermentativas facultativas (Henze et al., 2008).

Nesta etapa, os compostos são oxidados anaeróbiamente e convertidos em compostos simples que são posteriormente excretados. Estes compostos incluem ácidos gordos voláteis (AGV), como o acetato, propionato e butirato, álcoois, ácido láctico, CO₂, H₂, NH₃ e H₂S. Nas equações 2, 3 e 4 é possível observar a reação química representativa da conversão da glucose (formada na etapa anterior) a etanol, ácido propiónico e ácido acético, respetivamente.





De uma forma geral, compostos neutros como açúcares e proteínas são convertidos em AGV e ácido carbónico, sendo por esse motivo os compostos mais abundantes. Segundo a tabela 3, uma acidogénese de sacarose, pode gerar diferentes quantidades de AGV, HNO_3^- , H_2 e H^+ , dependendo das características do meio no reator. Assim, é possível observar que as reações às quais corresponde uma menor variação na energia livre de Gibbs (ΔG°) dependem fortemente das concentrações existentes de H_2 . Desta forma, se o H_2 for removido de forma eficiente pelas bactérias que o consomem, como as metanogénicas, o acetato vai ser o produto maioritário, uma vez que baixas concentrações de H_2 fomentam a redução dos ácidos butírico e propionato a acetato, na etapa seguinte de acetogénese (Metcalf et al., 2002). Caso contrário, num meio onde haja acumulação de H_2 , devido a um atraso na fase metanogénica, a produção irá tender para a formação de produtos intermediários, como é o caso do ácido butírico e propiónico e até de compostos como ácido láctico e álcoois (Henze et al., 2008).

Tabela 3 – Reações acidogénicas com sacarose como substrato e a correspondente variação na energia livre de Gibbs (ΔG°) a 25 °C (Henze et al., 2008)

Reações	ΔG° (kJ/mol)
$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + 9\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{HCO}_3^- + 8\text{H}^+ + 8\text{H}_2$	-457,5
$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + 5\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 4\text{HCO}_3^- + 6\text{H}^+ + 4\text{H}_2$	-541,1
$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{HCO}_3^- + 6\text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-610,5

Tal como já foi mencionado, esta etapa é também a mais rápida de todo o processo de digestão anaeróbia, tendo por isso taxas de crescimento e conversão muito superiores à etapa de metanogénese, tal como é possível observar na tabela 4.

Tabela 4 – Valores médios para as propriedades cinéticas das bactérias acidogénicas e das bactérias metanogénicas, adaptados de (Henze et al., 2008)

Processo	Taxa de conversão (g CQO/ g SV d)	Y (g SV/g CQO)	K_s (mg CQO/l)	μ_{máx} (1/d)
Acidogénese	13	0,15	200	2,00
Metanogénese	3	0,03	30	0,12
Global	2	0,03 a 0,18	-	0,12

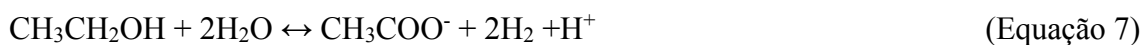
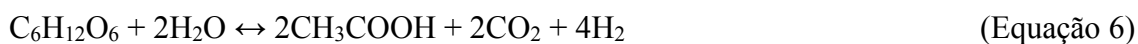
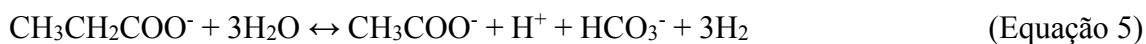
2.3.3. Acetogénese

Na etapa de acetogénese, as bactérias acetogénicas (bactérias produtoras obrigatórias de H₂), convertem os produtos da fermentação/acidificação anterior que não podem ser utilizados pelas bactérias metanogénicas, como álcoois, AGV e compostos aromáticos, em acetato, H₂ e CO₂.

No entanto, a conversão destes produtos, não é energeticamente favorável, pelo que, para ocorrer a sua redução a acetato e H₂, o sistema tem que possuir baixas concentrações de H₂ no meio, sendo que a sua pressão parcial não pode atingir valores superiores a 10⁻⁴atm. Caso contrário a reação é inibida e por consequência, também a produção de metano que ocorre na etapa seguinte (Metcalf & Eddy, 2002).

Assim, a medição da concentração de H₂ é parâmetro importante, pois surge como indicador da saúde no reator. Por outro lado, a medição de AGV também é outro parâmetro importante, isto porque a acumulação destes compostos, provoca uma diminuição do pH, provocando também a inibição da etapa seguinte de metanogénese.

Assim, em condições ótimas de pressão parcial de H₂, ocorre tal como está representado na equação 5, a conversão de ácido propiónico a acetato. A equação 6 e 7 representam, respetivamente, a conversão da glucose e do etanol a acetato, que ocorre também nesta etapa, nas mesmas condições acima referidas (Ostrem, 2004).



2.3.4. Metanogénese

A quarta etapa, denominada de metanogénese é levada a cabo por um grupo de bactérias denominadas de bactérias metanogénicas. Este grupo de bactérias, classificado de *archaea*, é estritamente anaeróbio. Existem dois grupos de bactérias metanogénicas responsáveis pela produção de metano na digestão anaeróbia. O primeiro grupo, denominado de *acetoclastic methanogens*, é responsável pela conversão da molécula de acetato em metano e dióxido de carbono. O segundo grupo de bactérias utiliza o H_2 como dador de eletrões e o CO_2 como aceitador de eletrões também para produzir metano (Metcalf & Eddy, 2002).

No entanto, da totalidade de metano produzido, cerca de 70% corresponde a degradação da molécula de acetato, sendo que apenas o restante é resultante da conversão do H_2 com o CO_2 .

A taxa de crescimento das bactérias metanogénicas acetoclásticas é bastante lenta, o que resulta em tempos de duplicação que demoram vários dias. Esta longa taxa de crescimento explica o longo período de arranque em reatores nos quais ocorre o processo de digestão anaeróbia, quando estas bactérias não estão adaptadas a determinado substrato. Por outro lado, tal como se pode observar pela tabela 5, as bactérias metanogénicas consumidoras de H_2 , denominadas hidrogenótroficas, possuem taxas de crescimento, bastante superiores às bactérias acetoclásticas, atingindo tempos de duplicação de 4 a 12 horas (Henze et al., 2008).

Tabela 5 – Para cada via de produção de metano na etapa de metanogénese: as reações mais importantes e a sua variação de energia livre de Gibbs (ΔG°) e alguns parâmetros cinéticos (Henze et al., 2008)

Etapa funcional	Reação	ΔG° (kJ/mol)	μ_{Max} (1/d)	T_d (d)	K_s (mg CQO/l)
Metanogénese acetotrófica	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$	-31	0,12 ^(a)	5,8 ^(a)	30 ^(a)
	$\text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$		0,71 ^(b)	1,0 ^(b)	300 ^(b)
Metanogénese hidrogenotrófica	$\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-131	2,85	0,2	0,06

Valores referentes a duas bactérias metanogénicas diferentes: *Methanosarcinaspec.*^(a) e *Methanosaetaspec.*^(b)

Para além do metano produzido nesta etapa, o biogás é também constituído por todos os outros produtos da metanogénese como o CO_2 (25 – 55% v) e outros compostos gasosos incluindo H_2S , vapor de água e azoto molecular, presentes em quantidades vestigiais (Zhao et al., 2010).

2.4. Tipos de digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia pode ser definida tendo em conta vários parâmetros, como por exemplo a quantidade em matéria seca do substrato e o modo de operação do digestor.

Assim, relativamente à quantidade de matéria seca no interior do digestor, a digestão anaeróbia pode ser húmida (matéria seca entre 5 a 15 %) ou seca (matéria seca superior a 15%). Por outro lado, o sistema de digestão anaeróbia pode ser classificado tendo em conta o seu modo de operação, que pode ser em modo contínuo ou em batch. Adicionalmente podem, ainda, ser utilizados um, dois ou mais digestores de forma a assegurar que cada etapa do processo seja o mais eficiente possível (The National Non-Food Crops Centre (NNFCC), s.d.).

Por fim, a digestão anaeróbia pode ainda ser classificada tendo em conta o formato do digestor, podendo este ser um tanque vertical ou um tanque horizontal do tipo *Plug Flow*. Normalmente, o tanque horizontal *Plug Flow* é aplicado para alimentações com

um maior teor em sólidos, uma vez que estas são encaminhadas ao longo do comprimento do reator, assegurando, assim, a permanência necessária para um tratamento eficaz, facto que não acontece nos digestores verticais. Estes últimos são, no entanto e em comparação com os digestores horizontais, mais baratos e mais simples de operar (The National Non-Food Crops Centre (NNFCC), s.d.).

2.5. Codigestão anaeróbia

A codigestão é definida como um método de tratamento em que dois ou mais substratos diferentes são misturados e digeridos anaeróbiamente. Dos vários benefícios que este método de tratamento apresenta destacam-se os seguintes (Khalid et al., 2011):

- Diluição de compostos tóxicos
- Aumento da carga de materiais orgânicos biodegradáveis
- Melhoramento no rácio de nutrientes
- Efeito sinérgico dos microrganismos
- Maiores rendimentos de metano no biogás produzido
- Aumento da taxa de digestão e fomento da estabilidade no sistema
- Melhoramento e ajustamento da razão C/N, podendo também diminuir a concentração de N no meio.
- A utilização de compostos com C/N contrárias é complementar e benéfica, pois provoca uma redução na problemática da acumulação de AGV, diminuindo também a concentração de amoníaco existente no meio.

Existem, na literatura, estudos de codigestão entre lamas de ETAR e os mais variados compostos orgânicos como é o caso, por exemplo, do estudo de (Athanasoulia et al., 2014), onde se estudou a codigestão de lamas de ETAR com glicerol proveniente da produção de biodiesel. Segundo os resultados obtidos, este sistema obteve uma produção de metano entre 3,8 e 4,7 vezes superior ao obtido apenas pela digestão da lama de ETAR, obtendo-se, também, uma biodegradabilidade da mistura superior a 88%. Por outro lado, segundo (Lebiocka & Piotrowicz, 2012) a adição de 25% de resíduos municipais sólidos

a um digestor de lamas de ETAR, provocou um aumento no volume de biogás produzido por massa de SV adicionado de $1,1 \text{ m}^3/\text{kg}$ para $1,51 \text{ m}^3/\text{kg}$.

Estudos adicionais de codigestão ocorrem ao nível da mistura de lama de ETAR com culturas de microalgas, como é o caso de (Olson et al., 2013), onde a adição de 12% de microalgas com o restante em lama de ETAR produz um aumento de 12% na produção de biogás, quando comparado com a digestão singular de lama de ETAR, nas mesmas condições. Por outro lado, segundo (Neczaj et al., 2012) a adição de 10 % de SV de resíduo proveniente de um desengordurador de uma fábrica de tratamento de carnes, rico em óleo e gorduras, na alimentação de um digestor anaeróbio de lama de ETAR provocou um aumento na produção de biogás de 16%, atingindo-se uma fração de CH_4 de 72%. Adicionalmente, este sistema de codigestão mostrou alcançar também, uma maior eficácia na remoção da matéria orgânica.

Assim, de uma forma geral, a codigestão tem sido definida como um processo de tratamento anaeróbio mais rentável que o processo de digestão usual, permitindo obter maiores eficiências ao nível da produção energética e uma maior eficácia da biodegradabilidade dos compostos tratados.

2.6. Condições e variáveis que influenciam o processo de digestão anaeróbia

2.6.1. Temperatura

A temperatura a que decorre o processo de digestão anaeróbia é um dos parâmetros que tem uma grande influência na eficácia da degradação dos substratos pelas populações microbianas, afetando não só a cinética e a estabilidade do processo, como também a percentagem em metano do biogás produzido (Khalid et al., 2011).

Dos grupos microbianos participantes no processo de digestão, destacam-se as bactérias metanogénicas acetotróficas como as mais sensíveis no que toca ao aumento da temperatura do meio. Por outro lado, a temperatura tem um efeito ainda mais pronunciado na pressão parcial do H_2 no digestor, influenciando a cinética do metabolismo sintrófico no processo de digestão, uma vez que, termodinamicamente, a conversão do butirato e

propionato em acetato, CO_2 e H_2 torna-se mais favorável a temperaturas superiores, enquanto que em iguais condições, o consumo de H_2 e CO_2 pelas bactérias metanogénicas hidrogenotróficas torna-se um processo energeticamente menos favorável (Appels et al., 2008).

Por outro lado, sabe-se que a aplicação de uma gama de temperatura menor contribui para uma diminuição no crescimento microbiano, assim como nas taxas de consumo de substrato e produção de biogás, podendo ocorrer, ainda, a exaustão na energia celular, fuga de substâncias intracelulares para o exterior da célula ou até lise das próprias células (Khalid et al., 2011).

A aplicação de temperaturas superiores possui benefícios como o aumento da solubilidade dos compostos orgânicos, maior rapidez na taxa de degradação dos mesmos, menor viscosidade do efluente, maior produção de biomassa e gás e o aumento da destruição de organismos patogénicos. No entanto, a sua aplicação tem algumas desvantagens, como por exemplo, a diminuição da produção de metano no biogás, devido à produção de gases voláteis como o amoníaco, que provocam um efeito inibitório na atividade metanogénica (Khalid et al., 2011; Appels et al., 2008). Por outro lado, esta gama de temperaturas está também associada a uma maior instabilidade do processo e a elevados custos energéticos.

Assim, no que diz respeito à temperatura a que ocorre o processo, a digestão anaeróbia pode ocorrer em condições mesofílicas ou termofílicas, sendo que a escolha da gama de temperaturas a aplicar depende, sobretudo, da composição do substrato e do tipo de digestor. No entanto, independentemente da gama escolhida, é essencial a manutenção de uma temperatura constante, de forma a manter, também constante, a taxa de produção de biogás. Desta forma, em condições mesofílicas, que são as condições geralmente aplicadas, a gama de temperaturas varia entre 20 a 45 °C, apontando-se como valor ótimo a temperatura de 35 °C. A preferência por esta gama explica-se sobretudo pela maior estabilidade do processo de digestão no reator e pelos menores custos energéticos associados (Monnet, 2003; Khalid et al., 2011).

Por sua vez, em condições termofílicas, a gama de temperaturas aplicadas varia entre 50 e 65 °C, apontando-se como temperatura ótima o valor de 55 °C (Monnet, 2003).

2.6.2. pH e capacidade tampão

Segundo (Ward et al., 2008), o valor de pH ótimo para a digestão anaeróbia possui uma gama relativamente estreita de valores, variando entre 6,8 e 7,2. No entanto, cada etapa da digestão anaeróbia possui um intervalo de pH ótimo diferente, sendo que para a metanogénese este ronda o valor de 7 e para as etapas de hidrólise e acidogénese o pH ótimo varia entre 5,5 e 6,5.

Ao longo das diferentes etapas do processo de digestão anaeróbia, são produzidos compostos que influenciam o pH do meio, como é o caso, por exemplo, dos ácidos gordos voláteis formados na etapa de acidogénese. Estes ácidos provocam uma descida no pH, influenciando a atividade metanogénica, podendo até inibi-la. Adicionalmente, ao longo do processo de digestão anaeróbia é usual a ocorrência da produção de amoníaco. A libertação deste composto no meio provoca um aumento do pH, fomentando a instabilidade de todo o processo e provocando uma acumulação dos AGV, sendo estes últimos os responsáveis por nova diminuição do pH. A interação entre o amoníaco, os AGV e o pH, pode induzir no sistema um estado de “inibição estabilizado”, ou seja, o sistema de digestão anaeróbia, ainda que estável, tem a si associado uma produtividade muito baixa em metano, devido à inibição causada pelo amoníaco e pela quantidade de AGV presente no meio (Chen et al., 2008).

Assim, uma das principais condicionantes para o funcionamento eficaz deste sistema é a sua alcalinidade ou capacidade tampão, ou seja, a sua capacidade em contrariar as variações de pH do meio, induzidas pela presença dos compostos produzidos ao longo do processo de digestão. Esta propriedade pode definir-se como o equilíbrio entre as quantidades de dióxido de carbono e dos iões de bicarbonato que fornecem a resistência a variações rápidas e significantes de pH (Ward et al., 2008).

Desta forma, o método mais fiável de controlo do pH, consiste na medição da alcalinidade do sistema, uma vez que a acumulação de ácidos gordos de cadeia pequena, ou AGV, provoca uma diminuição considerável da alcalinidade antes de este fator se tornar observável pela diminuição do pH. Assim, para que o digestor esteja a funcionar em perfeitas condições a concentração de bicarbonato no sistema tem que tomar valores

não inferiores a 1000 mg /L de CaCO_3 ou uma razão molar de pelo menos 1,4:1 de bicarbonato/AGV (Molett, 1998; Appels et al., 2008).

O aumento da alcalinidade do sistema é conseguido, normalmente, através da diminuição da carga orgânica que é alimentada ao digestor. No entanto, a forma mais rápida consiste na adição de bases fortes ou sais carbonatados que procedam à remoção do dióxido de carbono gasoso, através da sua conversão em bicarbonato. Alternativamente, pode adicionar-se bicarbonato diretamente ao sistema (Ward et al., 2008).

2.6.3. Agitação

De forma a obter uma maior eficiência no sistema de digestão, é necessário que as propriedades da fase líquida estejam homogeneizadas, garantindo assim, iguais condições de temperatura e concentrações dos vários compostos, ao longo do digestor, pelo que, a melhor forma para satisfazer esta condição é através da agitação do sistema.

Desta forma, é possível melhorar o contacto entre os microrganismos e o substrato, melhorando também a sua capacidade de obtenção de nutrientes. No entanto, é preferível uma agitação lenta, devido ao facto de que se esta for muito forte, poderá provocar a rutura dos microrganismos. No caso da codigestão, é essencial uma agitação prévia à entrada do digestor de forma a homogeneizar suficientemente a mistura dos substratos (Verma, 2002).

2.6.4. Nutrientes

A presença de nutrientes no meio é um fator limitante ao crescimento microbiano e portanto, é imprescindível a satisfação das necessidades nutricionais dos microrganismos, para a obtenção de um sistema saudável. No caso da digestão anaeróbia, apenas uma pequena porção da matéria orgânica, existente no substrato, é utilizada para

crescimento celular, pelo que, as necessidades nutricionais para este sistema são relativamente baixas (McCarty, 1964).

Assim, para a satisfação das necessidades nutricionais do consórcio microbiano anaeróbio é necessária a presença de elementos em quantidades vestigiais, denominados de micronutrientes, como cobalto (Co), ferro (Fe), níquel (Ni), enxofre (S), selénio (Se), tungsténio (W) e molibdénio (Mo) e outros micronutrientes que mostraram ter um efeito benéfico na digestão anaeróbia como o bário (Ba), o cálcio (Ca), o magnésio (Mg) e o sódio (Na).

Por outro lado, a digestão anaeróbia carece também da presença, em maiores quantidades, de outros elementos, denominados de macronutrientes, como o azoto e o fósforo. Estes elementos estão disponíveis na digestão anaeróbia sob a forma de NH_4^+ e HPO_4^- , respetivamente e fazem parte da constituição das células bacterianas, sendo que em peso seco, o azoto representa cerca de 12% do peso total das células bacterianas e o fósforo representa cerca de 2% (Suryawanshi et al., 2013).

As necessidades quantitativas destes elementos dependem da carga orgânica aplicada (parâmetro que permite medir a capacidade de conversão biológica no sistema de DA), podendo apresentar variações de CQO: N: P de 1000:5:1, para afluentes de alta carga orgânica e de 350:5:1 para efluentes de baixa carga orgânica (Suryawanshi et al., 2013; Lettinga et al., 1981)

Adicionalmente, é necessária a certificação de que existe no sistema, uma razão carbono/azoto suficiente para sustentar um bom desenvolvimento celular. Segundo (Dioha et al., 2013) a razão C/N aconselhada para obter uma produção ótima de biogás varia entre 25 e 30, sendo que valores acima ou abaixo deste intervalo, possuem um efeito adverso no processo de digestão. Assim, uma razão C/N superior a este intervalo é um indicador de um rápido consumo de azoto pelas bactérias metanogénicas, resultando numa menor produção de biogás. Por sua vez, valores inferiores a este intervalo, indicam uma acumulação de amoníaco, provocando um aumento do pH para valores superiores a 8,5, tornando o ambiente hostil para as bactérias metanogénicas (Verma, 2002).

O melhoramento desta razão passa por co digerir substratos complementares, ou seja, pela digestão de uma mistura de substratos com razões C/N contrárias, uma baixa e uma alta, como é o caso, por exemplo, da mistura de sólidos orgânicos urbanos com água de esgoto (Khalid et al., 2011; Verma, 2002).

2.6.5. Razão inóculo – substrato

A digestão anaeróbia é um processo complexo que requer a presença de várias espécies de microrganismos, pelo que, o inóculo a escolher terá de ter na sua composição todos microrganismos necessários para que seja possível o arranque do processo de degradação (Angelidaki & Sanders, 2004).

Assim, a quantidade e o tipo de inóculo a colocar no digestor anaeróbio são fatores essenciais para obter uma boa biodegradabilidade em todo o processo de digestão, uma vez que o inóculo é o responsável por sustentar a população bacteriana, na fase inicial do reator. Sem este, a estabilização do digestor demoraria longos períodos de tempo, como meses ou até anos. Normalmente, o inóculo a ser usado tem de ser recolhido em locais onde a digestão anaeróbia metanogénica ocorre naturalmente, como digestores anaeróbicos de lamas de ETAR, esgotos, fezes de animais ou sedimentos anaeróbios colhidos no fundo de lagos (Qamaruz-Zaman & Milke, 2008). No entanto, o tipo de inóculo preferencialmente aplicado são lamas digeridas, uma vez que, para além de ser um inóculo de largo espectro e existir em quantidades abundantes, é também um tipo de inóculo cuja utilização já foi várias vezes demonstrada como bem-sucedida (Owen et al., 1978).

A quantidade de inóculo a colocar num digestor toma valores preferivelmente baixos, uma vez que se este for adicionado em grandes quantidades, os resultados obtidos a nível de produção de biogás podem ser não demonstrativos, pois a produção de biogás pode dever-se ao efeito do inóculo e não à adição de substrato, caso o inóculo possua uma produtividade em biogás muito superior ao substrato (Angelidaki & Sanders, 2004).

No entanto, a utilização de razões muito baixas de inóculo/ substrato podem causar a sobrecarga do sistema, causando acumulação excessiva de AGV, o que se traduz numa acidificação do meio. Este efeito apenas pode ser combatido se existir no sistema concentrações elevadas de amoníaco quer presentes no meio, quer resultantes da degradação de proteínas presentes no substrato. Desta forma, caso esteja presente, o amoníaco fornece um efeito tampão, contrariando a tendência de acidificação do sistema (Angelidaki & Sanders, 2004).

Segundo o protocolo desenvolvido por (Owen et al., 1978) para realização de testes de avaliação ao potencial metanogénico bioquímico ou *Biochemical Methane Potential* (BMP_{SV}), a razão inóculo/substrato, em massa de SV, a aplicar toma valores iguais ou superiores a 1,0. Por outro lado, segundo a norma ISO 11734 (1995), “*Evaluation of the “ultimate” anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge – method by measurements of the biogas production*”, o inóculo deve ser adicionado no digestor até perfazer, em quantidade de sólidos totais (ST) e por volume de digestor, entre 1 g/ L a 3 g/L (Qamaruz-Zaman & Milke, 2008).

2.6.6. Toxicidade e inibição

Qualquer composto, mesmo sendo um nutriente, que ultrapasse um determinado limite de concentrações, pode passar de benéfico a inibidor do processo de digestão anaeróbia, tornando-se tóxico, tal como é observável na tabela 6.

Tabela 6 – Substâncias com potencial para causar inibição biológica no processo de digestão anaeróbia, retirado de (Wilson et al., 2006)

Substância	Concentração moderadamente inibidora (mg/L)	Concentração fortemente inibidora (mg/L)
Cálcio	1500 a 4500	8000
Magnésio	1000 a 1500	3000
Sódio	3500 a 5500	8000
Potássio	2500 a 4500	12000
Azoto amoniacal	1500 a 3000	3000
Cobre	-	50 a 70 (total)
Crómio VI	-	200 a 250 (total)
Crómio	-	180 a 420 (total)
Níquel	-	30 (total)
Zinco	-	1,0 (solúvel)

No entanto, o efeito tóxico da concentração de determinada substância não é algo linear pois existem alguns fenómenos como o antagonismo, sinergismo e aclimação que podem contrariar determinados efeitos potencialmente tóxicos.

A aclimação, ou por outras palavras, adaptação, ocorre sempre que se procede à introdução gradual de determinada substância no ambiente microbiano, fazendo com que os microrganismos se habituem à sua presença, conseguindo assim, ultrapassar o bloqueio

metabólico originado por ação de um determinado composto. Por sua vez, antagonismo é definido como a diminuição do efeito tóxico de determinado composto, aquando da presença de outro. Contrariamente, o sinergismo é definido como o aumento do efeito tóxico de um determinado composto, provocado pela presença de outro (Mignone, 2005).

Das substâncias reconhecidas como inibidores à digestão anaeróbia, destacam-se o amoníaco, o oxigénio, o sulfato, iões metálicos leves (como o Na, K, Mg, Ca e o Al), metais pesados, compostos orgânicos e ácidos gordos de cadeia longa ou (AGCL).

A descrição de cada um destes compostos e da sua atuação ao nível da digestão anaeróbia que se seguem, foram baseadas no estudo elaborado por (Chen et al., 2008).

2.6.6.1. Amoníaco

Este composto existe na digestão anaeróbia sob duas formas: a forma iónica (NH_4^+) e a forma livre (NH_3), sendo que a presença de uma ou outra é altamente influenciada pelo pH do meio. Segundo (Chen et al., 2008), a forma livre de amoníaco é a mais inibidora, uma vez que é permeável à membrana das bactérias. De todos os grupos de bactérias responsáveis para digestão anaeróbia, as metanogénicas revelam ser as mais sensíveis à presença deste composto. A presença de determinados iões como o Na^+ , Ca^{2+} , e Mg^{2+} no meio produz um efeito de antagonismo relativamente ao amoníaco, sendo que a sua presença diminui o efeito de inibição.

2.6.6.2. Oxigénio

Devido ao facto de a digestão anaeróbia ocorrer em ambientes caracterizados pela ausência de oxigénio, as bactérias responsáveis por este processo sofrem um efeito inibitório na presença deste elemento.

2.6.6.3. Sulfato

Em meio anaeróbio, o sulfato é reduzido a sulfeto por bactérias redutoras de sulfato (BRS), provocando desta forma, a inibição da metanogénese por competição a compostos orgânicos e inorgânicos. Por outro lado, o sulfeto é um composto tóxico para vários grupos de bactérias.

2.6.6.4. Iões metálicos leves

A toxicidade de sais, cujas concentrações elevadas podem levar à desidratação das células bacterianas devido à pressão osmótica, está associada aos cátions que os compõem. Estes cátions, como o Na, K, Mg, Ca e o Al, podem ser libertados aquando da degradação de matéria orgânica e ainda que a sua presença em determinadas quantidades produza um efeito benéfico na produção de biogás, como qualquer outro nutriente, concentrações acima do limite, podem ser altamente inibitórias ou tóxicas.

2.6.6.5. Metais pesados

Estes compostos podem ser encontrados em concentrações significativas em águas residuais e lamas, sendo que os mais preocupantes para o processo de digestão são o cromo, o cobalto, o cobre, o zinco, o cádmio e o níquel. Ao contrário de outros compostos tóxicos, os metais pesados não são biodegradáveis, podendo acumular-se e atingir concentrações tóxicas, sendo por isso, uma das principais causas de fracasso dos digestores.

2.6.6.6. Compostos orgânicos

Estes compostos, devido à sua pobre solubilidade têm tendência a acumular atingindo concentrações inibitórias. A concentração de poluentes apolares nas membranas bacterianas, provoca o seu inchaço e ruptura, causando lise celular.

2.6.6.7. Compostos orgânicos e ácidos gordos de cadeia longa (AGCL)

Estes compostos são reconhecidos como inibitórios, mesmo em baixas concentrações para bactérias gram-positivas, sendo que o mesmo não acontece para as gram-negativas. Uma vez que a parede celular das bactérias metanogénicas é semelhante à parede celular das bactérias gram-positivas, as bactérias metanogénicas são igualmente afetadas pela presença destes compostos sofrendo inibição.

Adicionalmente, para além dos AGCL demonstrarem exercer um efeito tóxico bastante acentuado no consórcio anaeróbio devido à sua adsorção pela parede/membrana celular dos microrganismos, pode também ocorrer a sua incorporação na biomassa, provocando a flutuação da lama no digestor e levando ao seu wash-out.

Estudos demonstram que a adição de cálcio no sistema reduz o efeito inibidor dos AGCL, não impedido no entanto, o problema da flutuação das lamas.

2.6.7. Tempo de retenção hidráulico e tempo de retenção de sólidos

O tempo de retenção hidráulico (TRH) é definido como o tempo em que a lama líquida permanece dentro do reator. Por sua vez, o tempo de retenção de sólidos (TRS) é definido como o tempo médio em que os sólidos constituintes da lama se mantêm dentro do digestor. Este último é o fator mais limitante na conversão dos sólidos voláteis em biogás, desempenhando, também, um papel muito importante na manutenção da estabilidade do reator. Desta forma, quando é aplicado um TRS baixo, não é dado o tempo suficiente para que as bactérias cresçam e se multipliquem de forma a substituir as que se

perdem com a saída do efluente, provocando a ocorrência do fenómeno de wash-out (Burk, 2001).

Segundo, (Appels et al., 2008), todas etapas subsequentes no processo de digestão estão diretamente relacionados com o valor de TRS, sendo este diretamente proporcional à extensão das reações que ocorrem durante o mesmo. Assim, segundo (Turovsky & Mathai, 2006) a TRS a aplicar em digestores anaeróbios mesofílicos de lamas de ETAR varia entre 15 a 20 dias.

2.6.8. Carga orgânica aplicada (ORL) / Sólidos voláteis (SV)

A carga orgânica aplicada consiste na quantidade de substrato que é alimentada ao reator, sendo que esta pode ser expressa em quantidade de carência química de oxigénio (CQO) ou em quantidade de sólidos voláteis (SV) por volume de digestor e por dia.

Este parâmetro influencia fortemente todo o processo de digestão anaeróbia, sendo que em excesso, pode provocar um aumento da atividade acidogénica, o que implica uma maior produção e consequente acumulação de ácidos gordos voláteis, CO₂, e H₂. Por sua vez, esta acumulação de AGV influencia o pH, diminuindo-o e tornando o ambiente austero para as bactérias metanogénicas, uma vez que estas sofrem inibição a partir de um pH de 6,6 (White, 2011).

Segundo (Turovsky & Mathai, 2006) a carga orgânica aplicada em digestores de lamas mesofílicos deverá variar, em massa de SV, por volume de digestor e por tempo decorrido, entre 1,6 e 3,2 kg m⁻³ d⁻¹.

Capítulo 3. | Materiais, Métodos e Procedimentos Experimentais

3.1. Inóculo anaeróbio

3.2. Lamas de ETAR e ETA (substratos)

3.3. Projeto experimental

3.4. Métodos analíticos

Neste capítulo são descritos todos os materiais e procedimentos experimentais utilizados no âmbito desta dissertação. Começa-se por descrever a metodologia utilizada para a caracterização do inóculo, ao nível da sua atividade metanogénica e sólidos totais e voláteis, apresentando-se, posteriormente, os resultados obtidos. Seguidamente, são mencionados os métodos utilizados para a caracterização dos substratos utilizados, sendo estes, posteriormente, descritos pormenorizadamente no final deste capítulo, na secção respetiva à descrição dos métodos analíticos. No terceiro subcapítulo encontram-se descritos a metodologia utilizada para a caracterização elementar das lamas de ETA e do composto digerido por ICP e os procedimentos utilizados na realização dos ensaios experimentais efetuados ao longo desta tese. Por fim, no último subcapítulo é possível encontrar a descrição e os respetivos procedimentos experimentais de todos os métodos analíticos utilizados para a caracterização e monitorização dos trabalhos experimentais efetuados.

3.1. Inóculos anaeróbios

No âmbito desta dissertação foram utilizados dois tipos de inóculo, um para os ensaios de toxicidade e outro para os ensaios de biodegradabilidade.

Nos ensaios de toxicidade foi utilizada como inóculo, biomassa granular proveniente da fábrica da Sociedade Central de Cervejas, situada em Vila Franca de Xira. Esta biomassa trata efluentes provenientes da indústria cervejeira, através de um processo de digestão anaeróbia, sendo que a porção utilizada como inóculo possuía, em massa de SV por massa de inóculo, $0,08 \pm 0,00$ g/ g e uma atividade metanogénica (AM), em volume de metano produzido nas condições PTN dividido pela massa de SV adicionado e pelo tempo decorrido, de 154 ± 28 mL g⁻¹ d⁻¹ para acetato e 495 ± 31 mL g⁻¹ d⁻¹ para o H₂.

Em todos os ensaios de biodegradabilidade realizados, foi utilizado como inóculo, lamas digeridas provenientes de um sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR, localizado em Espinho e cuja produção em metano atual ronda valores de 66%. Esta lama continha em massa de ST e SV por massa de inóculo, 40 ± 7 g/ g e 31 ± 5 g/ g, respetivamente.

Para avaliar a produtividade do inóculo obtido na ETAR de Espinho procedeu-se à medição da sua atividade metanogénica. Esta análise foi feita com base no procedimento elaborado por (Costa, 2012) e consiste na medição do metano produzido na degradação de substratos líquidos e gasosos, ao longo do tempo. O substrato líquido utilizado foi o acetato, permitindo avaliar a atividade acetoclástica do inóculo em estudo e o substrato gasoso aplicado foi o hidrogénio, cuja análise permite avaliar a atividade hidrogenotrófica.

Cada ensaio foi produzido em triplicado, sendo que em cada três garrafas foram testados os substratos acetato e hidrogénio. Por fim, colocaram-se mais seis garrafas, para constituir os brancos destes ensaios, de forma a determinar a atividade do inóculo, sem adição de substratos. Assim, para os brancos do substrato líquido utilizaram-se três garrafas, onde não houve adição de substrato e para os brancos do substrato gasoso, utilizaram-se as três garrafas restantes, adicionando-se azoto.

Para testar o substrato líquido foram utilizadas três garrafas de 25 mL, com um volume de trabalho de 12,5 mL, constituído pelo inóculo a 3 g /L (em massa de SV), pelo acetato a 3 mol/L e pela solução tampão constituída por 1 mL/L de resazurina (1g/L) em água desmineralizada, um acerto de pH entre 7 e 7,2 e pela adição de 3 g/L de bicarbonato de sódio.

Os três brancos para o substrato líquido foram feitos da mesma forma, excetuando no passo da adição do substrato, sendo que para substituir o volume do substrato que não foi colocado, foi adicionada uma maior quantidade de solução tampão, para perfazer um igual volume de trabalho.

Para testar o substrato gasoso, foram utilizadas seis garrafas de 70 mL, onde foi adicionado o mesmo volume de inóculo que nos ensaios líquidos perfazendo-se o restante volume de trabalho de 12,5 mL com a solução tampão. Procedeu-se, então, à lavagem do *headspace* com H₂/CO₂, em três das seis garrafas e com N₂/CO₂ no caso das restantes, até atingir a pressão de 1 bar.

Assim, no primeiro dia do ensaio, são colocados em todas as garrafas, o inóculo e a solução tampão, procedendo-se após o fecho das garrafas à lavagem do seu *headspace* com N₂/CO₂ (80/20 v/v). Por fim, é adicionado Na₂S·9H₂O até atingir 0,001 mol/L, em todas as garrafas, sendo posteriormente colocadas à temperatura de 37 °C e a 120 rotações por minuto, durante uma noite. No dia seguinte, as garrafas são despressurizadas e são adicionados os substratos. Seguidamente, as garrafas são novamente colocadas a T=37 °C e a 120 rotações por minuto e após uma hora nestas condições é medida a pressão pela primeira vez. A quantificação do biogás produzido é feita com base na “técnica do transdutor de pressão” (Colleran et al., 1992; Coates et al., 1996), sendo que esta consiste na medição do aumento/ diminuição da pressão dentro das garrafas seladas causada pela produção de biogás, resultante da degradação dos substratos (Angelidaki et al., 2006).

Assim, para medir as variações de pressão, foi utilizado um transdutor de pressão (*Centrepints Electronics, Galway, Ireland*), cuja sensibilidade permite medir variações de ± 2 atm, obtendo leituras num intervalo entre -200 e +200 milivolts.

No final do ensaio, quando o valor de pressão estiver estabilizado, procede-se para cada garrafa às seguintes determinações:

- Quantificação do metano produzido através de uma análise por cromatografia gasosa, recorrendo a um GC Chrompack 9000, com detetor FID.
- Quantificação do teor em sólidos totais e voláteis.
- Medição do volume da fase gasosa, através da medição da pressão por um transdutor, antes e depois da injeção de 5 mL de ar, obtendo-se para cada garrafa a razão mV/ mL.

A atividade metanogénica (AM) do inóculo é expressa em volume de metano produzido nas condições PTN, por massa de SV adicionado e pelo tempo decorrido. Este parâmetro é obtido segundo a equação 8, pelo quociente entre o produto do declive inicial da curva de produção de metano (em mL/h), o fator de calibração e a percentagem de metano, com o teor em sólidos voláteis, correspondente.

$$AM \text{ (mL g}^{-1} \text{ d}^{-1}) = \frac{\%CH_4 \times \text{fator calibração} \times \text{mV/h} \times 24 \text{ horas}}{100 \times VS} \quad (\text{Equação 8})$$

Por fim, o valor correspondente à atividade dos brancos é descontado aos valores de atividade obtidos nos fracos com os substratos, de forma a eliminar os efeitos causados pela presença de um possível substrato residual na biomassa.

Os valores de atividade metanogénica obtidos para o inóculo proveniente de Espinho foram $15 \pm 3 \text{ mL g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ na presença de acetato e $171 \pm 23 \text{ mL g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ na presença de hidrogénio.

3.2. Lamas de ETAR e ETA (substratos)

Para os ensaios de biodegradabilidade da codigestão de lamas de ETA com lamas de ETAR, foram utilizadas lamas de ETAR provenientes do caudal de entrada do digestor localizado na ETAR Espinho e do qual provêm as lamas digeridas utilizadas como inóculo neste estudo. Estas lamas foram posteriormente co digeridas com lamas provenientes da ETA localizada em Braga, na Ponte do Bico.

Nos ensaios realizados para avaliar a viabilidade de um sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR, foram utilizados como substratos dois tipos de lamas

secundárias, provenientes de duas ETAR de diferentes localidades da cidade de Braga. Estas duas lamas foram misturadas em partes iguais e digeridas anaeróbiamente.

Cada tipo de lama foi caracterizado tendo em conta a sua quantidade em matéria orgânica, através da quantificação em CQO total e a sua quantificação em sólidos totais e voláteis. No caso das lamas de ETA, para além dos parâmetros referidos, procedeu-se também a uma caracterização elementar das mesmas, através da sua análise por ICP.

3.3. Projeto experimental

A avaliação do potencial na incorporação de lamas de ETA num sistema de digestão anaeróbio de lamas de ETAR foi efetuada segundo o esquema da ilustração 2. Começou-se por fazer uma análise em ICP da composição elementar das lamas de ETA para averiguar a presença de determinados compostos e a sua respetiva composição. Seguidamente, elaborou-se um ensaio de toxidade das lamas de ETA, avaliando o efeito da sua incorporação, em diferentes concentrações, na atividade das bactérias acetoclásticas, cuja sensibilidade permite prever as possíveis consequências da incorporação destas lamas na globalidade do processo anaeróbio. De forma a avaliar a sua biodegradabilidade, a lama de ETA foi posteriormente digerida, utilizando como inóculo, lamas digeridas e tendo como substrato uma porção de lamas de ETAR. No final, procedeu-se à análise em ICP do digerido resultante deste ensaio, de forma a avaliar o seu potencial na aplicação agrícola.

Paralelamente foram, também, feitos ensaios laboratoriais ao potencial metanogénico de dois tipos de lamas de ETAR, provenientes de duas zonas de Braga, de forma a avaliar a possível implementação de um sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR, tendo em conta as características das lamas testadas.

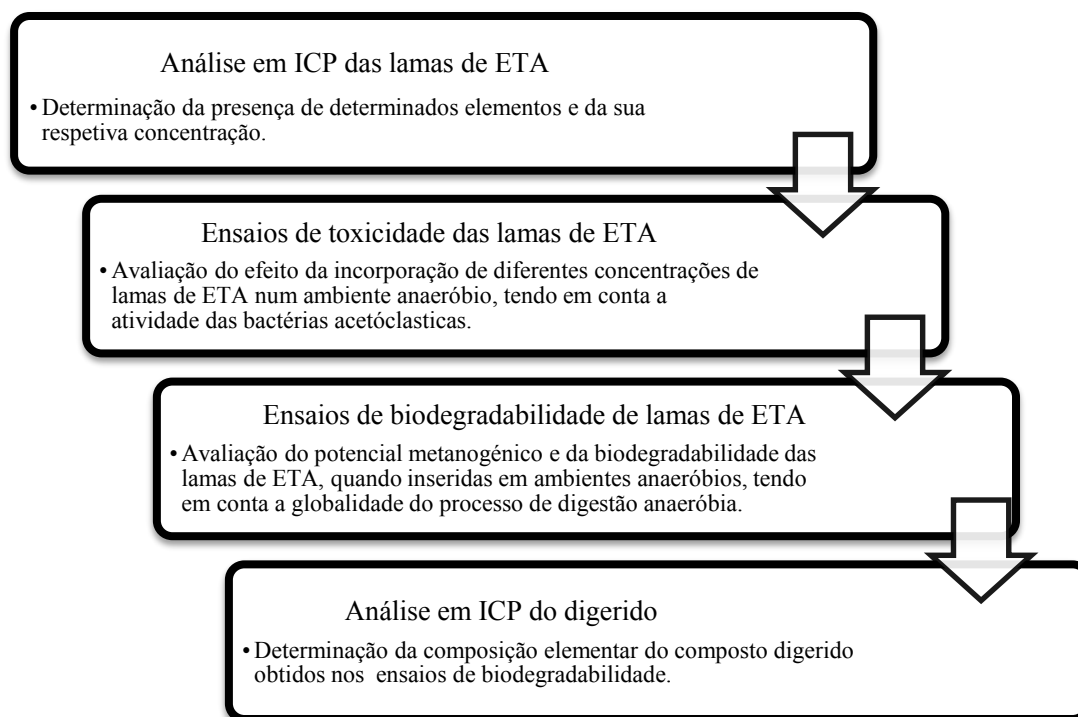


Ilustração 2 – Esquema sequencial das etapas do projeto experimental para a avaliação da incorporação de lamas de ETA num sistema de digestão anaeróbio de lamas de ETAR.

3.3.1. Caracterização elementar das lamas de ETA

Para proceder à caracterização das lamas de ETA, foram realizadas análises ao seu conteúdo em sólidos totais e voláteis e ao seu teor em CQO total.

Por fim, procedeu-se à digestão ácida das lamas de ETA, seguida de uma caracterização elementar por ICP.

Os elementos a testar foram escolhidos com base nos reagentes utilizados nas diferentes etapas de tratamento da água e das lamas geradas e também com base na bibliografia disponível sobre o tema.

3.3.1.1. Digestão ácida

O procedimento para a digestão ácida das lamas em estudo foi feito com base no método 3052, “*Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices*”, obtido através da página “*Hazardous Waste – Test Methods*” do site da EPA (Environmental Protection Agency, 1996).

No entanto, é importante mencionar que este foi adaptado tendo em conta as condições e os reagentes disponíveis no laboratório onde decorreu esta tarefa experimental.

Começou-se por pesar os frascos de digestão vazios, anotando-se posteriormente o seu peso. Seguidamente, colocou-se 0,5 g de lama de ETA, previamente moída com um almofariz, juntamente com 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de ácido clorídrico, sendo estes novamente pesados.

Para a obtenção dos parâmetros da digestão utilizou-se o gráfico da ilustração 3, para a digestão de solos, sedimentos, ou lamas, para uma temperatura pretendida de 180 °C.

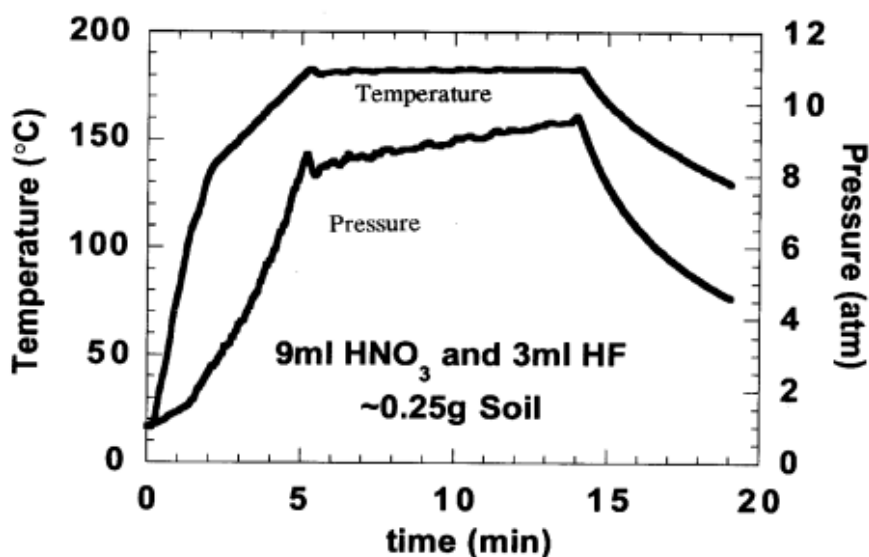


Ilustração 3 – Gráfico dos parâmetros de tempo, pressão e temperatura, a utilizar numa digestão ácida de solos, sedimentos, ou lamas, retirada do método 3025 “Micro wave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices”.

Os parâmetros aplicados no micro-ondas para a digestão das lamas de ETA podem ser observados na tabela 7, sendo relevante mencionar que estes foram ligeiramente diferentes aos valores obtidos no gráfico da ilustração 3, uma vez que foi necessária uma adaptação às características do micro-ondas utilizado.

Tabela 7 – Valores dos parâmetros utilizados na digestão das lamas de ETA, sendo que o parâmetro TAP consiste no tempo necessário para o alcance da pressão pretendida e *Time* consiste no período de tempo a que esta pressão deverá ser mantida depois do seu alcance

Parâmetro	Valor	Unidades
Pressão da digestão	110	psi
TAP	10	minutos
Time	20	minutos
Power	100	%

Por fim, após a digestão, os frascos foram novamente pesados de forma a concluir se houve perdas significativas de amostra durante a digestão, sendo posteriormente filtrados de forma a remover possíveis partículas não digeridas.

3.3.1.2. Caracterização da composição elementar por ICP

A caracterização elementar das lamas foi feita através do aparelho ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), cuja funcionalidade consiste na deteção e quantificação de diferentes elementos da tabela periódica.

Numa primeira etapa, procedeu-se a um levantamento dos elementos a analisar, através de uma pesquisa bibliográfica relativamente a outros estudos de caracterização de lamas provenientes de ETA e também com base nos reagentes utilizados no tratamento da água na ETA de onde é proveniente a lama em estudo.

Assim, os elementos a analisar foram: Si, Al, P, Mg, Ca, Na, K, Zn, Fe, Ni, P e os metais pesados Pb, Cd, As, Hg, Cr e Mn.

A primeira etapa após a decisão sobre os elementos a analisar, consiste na realização de curvas de calibração para cada um deles, utilizando reagentes que possuam os elementos pretendidos, tendo em conta as concentrações esperadas de cada um na amostra digerida.

Escolhidos os reagentes, procedeu-se então, à preparação de 1L de uma solução com 2% de ácido nítrico (H_2NO_3). Seguidamente, num balão volumétrico de 100 mL, colocou-se a massa previamente calculada de cada reagente, perfazendo-se o restante volume com a solução de 2% de H_2NO_3 , previamente preparada. Seguidamente, são feitas sete diluições tendo em conta o esquema da ilustração 4. Por fim, de cada solução preparada são retirados ± 10 mL para um tubo de amostra, que será posteriormente analisado no ICP.

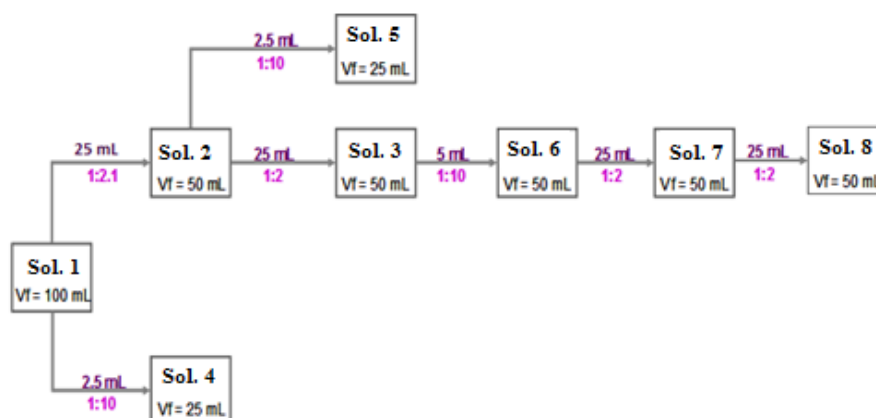


Ilustração 4 – Esquema das diluições efetuadas para as curvas de calibração.

Antes de se dar início à análise em ICP, propriamente dita, das soluções para a curva de calibração e da amostra, é necessário predefinir, no equipamento, os elementos que vão ser analisados, o seu respetivo comprimento de onda e a concentração de cada elemento em cada solução da curva de calibração. Seguidamente, os tubos com as soluções para a curva de calibração são colocados no ICP e analisados.

Na ilustração5, encontra-se um esquema de um equipamento de ICP-MS. Neste, a amostra é inserida no centro de plasma do aparelho (1), ocorrendo a formação prévia de um aerossol de pequenas dimensões por ação de um sistema pneumático constituído por uma bomba peristáltica (3) e um nebulizador (4). Seguidamente, a amostra passa para a

câmara de nebulização (5), onde são removidas as partículas de aerossol de maiores dimensões, sendo que apenas as partículas com diâmetros inferiores a $5\ \mu\text{m}$ são libertadas para a tocha (8) e as restantes são enviadas para o dreno (7). Assim, apenas 2% de amostra consegue entrar na tocha. Aquando da inserção da amostra no plasma sob a forma de aerossol, ocorre instantaneamente a atomização e excitação dos átomos presentes. A radiação emitida pelas espécies excitadas quando estas voltam ao seu estado inicial (nível menos energético) é então, separada nos diferentes comprimentos de onda que a constituem. A radiação luminosa relativa aos comprimentos de onda previamente selecionados pelo operador é convertida em energia elétrica através de fotomultiplicadores (PMT), tornando possível o tratamento deste sinal pelo computador e a sua posterior correlação com a concentração do elemento na amostra (Ribeiro, 2005).

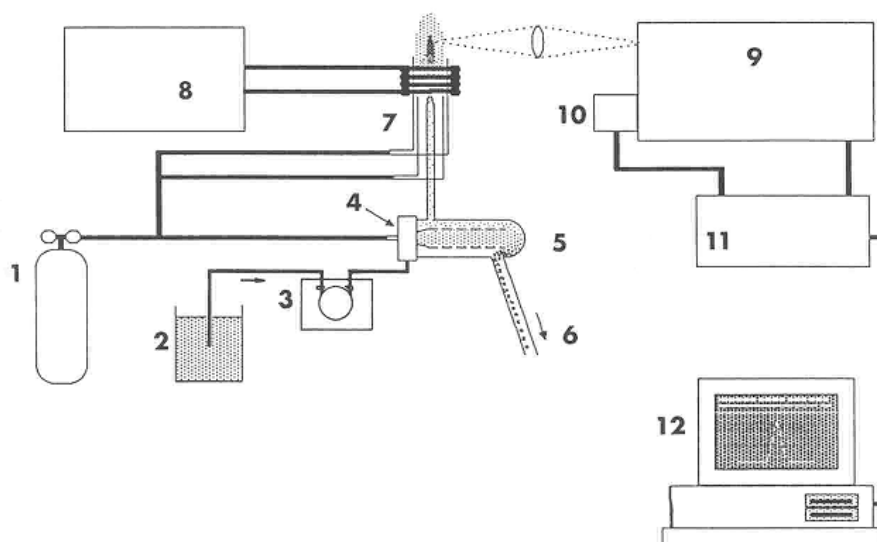


Ilustração 5 – Figura esquemática de um equipamento de espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICP-MS) adaptado de (Ribeiro, 2005).

No final da análise de todas as soluções para a curva de calibração, foram então, analisadas duas diluições, 1: 10 e 1: 100, da amostra digerida e devidamente filtrada de lamas de ETA.

No final, através das correlações obtidas pelas curvas de calibração, o ICP devolve o valor da concentração de um determinado elemento na amostra em estudo. A título de exemplo, na ilustração 6, do lado esquerdo, no canto inferior, pode observar-se a imagem da chama para o elemento K (Potássio). Do mesmo lado, no canto superior é possível observar as curvas de calibração para cada elemento obtidas pelo ICP. Por fim, do lado direito, observam-se os picos obtidos, correspondentes aos elementos da amostra digerida de lama de ETA, diluída em 1:100.

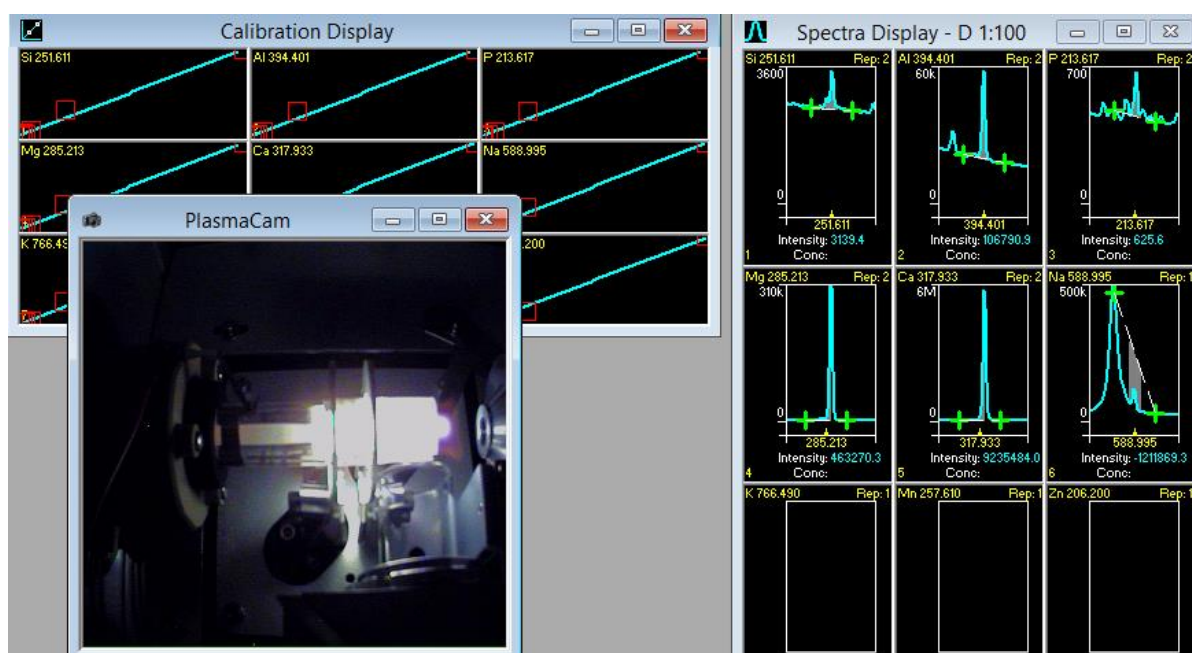


Ilustração 6 - Imagens das curvas de calibração e picos obtidos por ICP.

Na tabela 8, estão dispostos, para cada elemento, a discriminação e a massa de reagente adicionado à solução mãe para a preparação da curva de calibração e o comprimento de onda escolhido para leitura no ICP.

Tabela 8 – Para cada elemento estudado apresenta-se o reagente utilizado para execução das curvas padrão, a respetiva a massa adicionada e o comprimento de onda estudado no ICP

Elemento	Reagente utilizado	Massa de reagente (g)	Comprimento de onda utilizado no ICP (Å)
Si	Na ₂ O ₃ Si	0,02	251,611
Al	AlCl ₃	0,25	394,401
P	KH ₂ PO ₄	0,02	213,617
Mg	Mg(OH) ₂	0,05	285,213
Ca	CaCO ₃	0,25	317,933
Na	NaCl	0,01	588,995
K	KCl	0,01	766,490
Mn	MnCl ₂	0,02	260,568
Zn	ZnCl ₂	0,01	206,200
Fe	FeCl ₂	0,02	259,939
Ni	NiCl ₂	0,02	221,648
Hg	HgCl ₂	0,01	253,652
Pb	Solução padrão (100 mg/L)	1 mL	220,353
Cd	Solução padrão (50 g/L)	1 mL	214,440
As	Solução padrão (50 g/L)	1 mL	228,812
Cr	Solução de Crómio (1 g/L)	1 mL	267,716

3.3.2. Caracterização elementar do composto digerido resultante dos ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETA com lamas de ETAR, por ICP.

O procedimento para a caracterização elementar das lamas digeridas obtidas nos ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETA com lamas de ETAR, foi semelhante ao realizado para a caracterização das lamas de ETA, tendo como base o método 3052, “*Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices*”, obtido através da página “*Hazardous Waste – Test Methods*” do site da EPA (Environmental Protection Agency) (Environmental Protection Agency, 1996).

Começou-se por adicionar aproximadamente 0,5 g do composto digerido (foi utilizado o digerido referente à concentração de 50 g/L de lama de ETA), juntamente com 8 mL de ácido nítrico e 2mL de ácido clorídrico, sendo esta mistura colocada a digerir no micro-ondas.

Os parâmetros de digestão aplicados foram os mesmos utilizados para a digestão de lamas de ETA, podendo ser observados na tabela 7. Por fim, após a digestão a amostra foi filtrada e foram elaboradas três diluições da mesma (1:10, 1:100 e 1:1000) com uma solução de H_2NO_3 a 5%.

Procedeu-se, seguidamente, à elaboração das soluções para as curvas de calibração de cada elemento testado, sendo que para esta análise foi possível utilizar duas soluções padrão multe elementares, o que evitou a necessidade da utilização de reagentes para todos os elementos estudados, evitando também, possíveis reações entre os mesmos. Assim, num balão volumétrico de 100 mL foi colocado um 1 mL de uma solução multe elementar com os elementos Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, Na e Zn a 100 mg/L, juntamente com 1 mL de uma solução padrão com As a 100 mg/L. Por fim, para os restantes elementos Si, P, K, Mg e Ca foram utilizados os reagentes e a respetiva quantidade já descritos na tabela 8. As soluções padrão foram elaboradas com base no esquema da ilustração 4.

Os comprimentos de onda utilizados para a leitura no ICP foram os mesmos aplicados para as lamas de ETA (tabela 8), à exceção do Al e do Fe, cujos comprimentos de onda escolhidos foram 396,153 $\text{\AA}$ e 238,204 $\text{\AA}$, respetivamente. A restante metodologia não mencionada neste procedimento foi idêntica à realizada para a análise de lamas de ETA e está descrita no ponto 3.3.1.

3.3.3. Ensaios de toxicidade de lamas de ETA

Os ensaios de toxicidade consistem em testar o efeito da incorporação de determinados compostos num meio onde atuam determinados microrganismos, sendo possível concluir se a sua incorporação tem um efeito tóxico ou não, através da medição da atividade microbiana.

Neste ensaio, foi testado o efeito das lamas de ETA, na atividade metanogénica das bactérias acetoclásticas, um vez que por serem o grupo mais sensível à presença de determinados compostos e/ou variações do ambiente, permitem concluir, com alguma certeza, o efeito que a inserção de determinado composto pode ter na globalidade do processo de digestão anaeróbia (Hearns, 2006).

Para este ensaio, foram utilizados frascos de 120 mL, sendo que o volume de trabalho escolhido foi de 60 mL.

Começou-se por triturar a lama de ETA desidratada, com o auxílio de um almofariz, de forma a obter grãos com diâmetro não superior a um grão de areia. Seguidamente, procedeu-se à pesagem da lama para as garrafas, de forma a perfazer, em triplicado, concentrações em lama de ETA de 0, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 g/L. Adicionalmente, foram utilizadas mais três garrafas às quais foi adicionada apenas biomassa, constituindo os brancos do ensaio.

Procedeu-se então à pesagem da biomassa granular (descrita em 3.1.) para todas as garrafas do ensaio, de forma a perfazer uma concentração, em massa de SV, no volume de trabalho de 3 g/ L. Seguidamente, adicionou-se em todos os frascos uma solução tampão constituída por 1 mL/L de resazurina (1 g/L) em água desmineralizada, um acerto de pH entre 7 e 7,2 e 3 g/L de bicarbonato de sódio. Procedeu-se à lavagem do *headspace* com N₂/CO₂ (80/20 v/v), sendo posteriormente adicionado, também em todas as garrafas, Na₂S·9H₂O até atingir 0,001 mol/L. Por fim, as garrafas foram todas colocadas à temperatura de 37 °C e a 120 rotações por minuto, durante uma noite.

No dia seguinte, as garrafas são despressurizadas e é adicionado o acetato a 3 mol/L em todas, excetuando às três garrafas correspondentes aos brancos do ensaio.

Posteriormente, todas as garrafas foram novamente colocadas a $T=37^{\circ}$ e a 120 rotações por minuto. Após uma hora nestas condições é medida a pressão pela primeira vez.

A quantificação do biogás produzido é feita com base na “técnica do transdutor de pressão” (Colleran et al., 1992; Coates et al., 1996), sendo que esta consiste na medição do aumento/ diminuição da pressão dentro das garrafas seladas causada pela produção de biogás, resultante da degradação dos substratos (Angelidaki et al., 2006).

Por fim, quando o valor de pressão estiver estabilizado, dá-se o ensaio como terminado e procede-se para cada garrafa às seguintes determinações:

- Quantificação do metano produzido através de uma análise por cromatografia gasosa, recorrendo a um GC Chrompack 9000, com detetor FID.
- Quantificação do teor em sólidos totais e voláteis.
- Medição do volume da fase gasosa, através da medição da pressão por um transdutor, antes e depois da injeção de 5 mL de ar, obtendo-se para cada garrafa a razão mV/ mL.

A atividade metanogénica (AM) da biomassa é expressa em volume de metano produzido nas condições PTN, por massa de SV adicionado e por dia. Este parâmetro é obtido segundo a equação 9, pelo quociente entre o produto do declive inicial da curva de produção de metano (em mL/h), o fator de calibração e a percentagem de metano, com o teor em sólidos voláteis, correspondente.

$$AM \text{ (mL g}^{-1}\text{d}^{-1}\text{)} = \frac{\%CH_4 \times \text{fator calibração} \times \text{mV/h} \times 24 \text{ horas}}{100 \times VS} \quad (\text{Equação 9})$$

Por fim, o valor correspondente à atividade dos brancos do ensaio é descontado aos valores das atividades obtidas para as concentrações em estudo, de forma a eliminar os efeitos causados pela presença de um possível substrato residual na biomassa.

A atividade metanogénica relativa ao controlo (concentração 0 g/L) corresponde a 100%, sendo, a partir desse valor, calculada a percentagem relativa à atividade para cada concentração testada, através da equação 10.

$$\% AM = \frac{AM_{[lamaETA]} \times 100}{AM_{[controlo]}} \quad (\text{Equação 10})$$

3.3.4. Ensaio de biodegradabilidade da codigestão de lamas de ETA com lamas de ETAR

Os ensaios de biodegradabilidade permitem, não só determinar o potencial metanogénico associado a um determinado resíduo, como também a taxa de biodegradabilidade do mesmo. Existem, na literatura vários métodos para a monitorização destes ensaios, sendo que neste caso, foi utilizada à semelhança dos ensaios de atividade e toxicidade, a medição do aumento da pressão nas garrafas, com auxílio de um transdutor de pressão, para controlo do processo e a medição do metano produzido através de cromatografia gasosa (Angelidaki et al., 2006). Este ensaio teve por base o protocolo escrito por (Costa, 2012).

As concentrações testadas para este ensaio foram, em triplicado, 0, 10, 20, 50, 100, 200 g/L e o branco do ensaio, sendo utilizadas garrafas de 600 mL para um volume de trabalho de 120 mL. O primeiro e o segundo ensaio duraram, respetivamente, 22 e 13 dias.

Começou-se por triturar a lama de ETA com um almofariz, de forma a obter grãos com diâmetro não superior a um grão de areia, sendo esta posteriormente pesada para as garrafas. Seguidamente, colocou-se, em todas as garrafas, o inóculo numa quantidade correspondente a 50% do volume de trabalho utilizado, seguido da lama de ETAR que foi colocada também em todas as garrafas (ilustração 7), excetuando nas garrafas dos brancos.



Ilustração 7 – Sugestão para a representação dos ensaios de biodegradabilidade, adaptado de (Angelidaki & Sanders, 2004).

O volume de lama de ETAR foi determinado, tendo em conta a CQO teórica do acetato a 3 mol/L M a adicionar (caso se tratasse de um ensaio de toxicidade) e a CQO da lama de ETAR utilizada. Assim, num ensaio de toxicidade para um volume de trabalho de 12,5 mL seriam adicionados 0,125 mL de acetato a 3 mol/L, pelo que, o volume de lama de ETAR a adicionar, é dado segundo a equação 11.

$$V_{ETAR}(mL) = \left(\frac{V_{trabalho} \times 0,125}{12,5} \right) \times \frac{CQO_{teóricoAcetato}}{CQO_{lamasETAR}} \quad (\text{Equação 11})$$

Continuamente, foi adicionada em todas as garrafas uma solução tampão, de forma a perfazer o volume de trabalho. Esta solução foi preparada tendo em conta a tabela 9, à exceção da quantidade de NaHCO_3 adicionada, que ao invés de 2,6 g, como é apresentado na tabela, foi adicionada uma quantidade de 5 g à solução. Seguidamente procedeu-se, em todas as garrafas, à lavagem do *headspace* com N_2/CO_2 (80/20 v/v), colocando-se posteriormente $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ até atingir 0,001 mol/L. Por fim, as garrafas foram colocadas a 37 °C e após uma hora nestas condições foi medida pela primeira vez a pressão, com o transdutor, correspondendo ao tempo 0.

Tabela 9 – Descrição do meio básico anaeróbio, adaptado de (Angelidaki & Sanders, 2004)

Descrição típica da solução tampão para meio anaeróbio
A solução tampão é preparada a partir das seguintes soluções <i>stock</i> (os reagentes apresentados encontram-se na concentração g L ⁻¹ , em água destilada).
(A) NH_4Cl , 100; NaCl , 10; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5
(B) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 200
(C) Resazurina, 0.5
(D) Solução constituída por metais, em concentrações vestigiais e selenite: $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2; H_3BO_3 , 0.05; ZnCl_2 , 0.05; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.038; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.05; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.05; AlCl_3 , 0.05; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.05; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.092; etilenediaminetetraacetato, 0.5; HCL concentrado, 1 mL; $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.1
(E) Solução de vitaminas (componentes representados nas unidades mg/l): Biotina, 2; ácido fólico, 2; piridoxina, 10; riboflavina, 5; clorato de tiamina, 5; cianocobalamina, 0.1; ácido nicotínico, 5; ácido P-aminobenzoico, 5; ácido lipoico, 5; ácido DL-pantoténico.
Em 974 mL de água destilada, são adicionadas as soluções <i>stock</i> nos seguintes volumes: A, 10 mL; B, 2 mL; C, 1 mL; D, 1 mL e E, 1 mL. A mistura é refluxada com N_2/CO_2 (80/20 v/v). São seguidamente adicionados clorato de cisteína, 0.5 g e NaHCO_3 , 2.6 g.
Por fim a solução tampão é distribuída pelas garrafas, sendo estas autoclavadas, se necessário. Antes da inoculação as garrafas são reduzidas com $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ até atingir uma concentração final de 0.025%.

No dia seguinte, procedeu-se à análise do metano produzido, sendo os valores obtidos correspondentes ao tempo 0. Uma nova análise ao metano foi feita, sempre que se observaram aumentos significativos de pressão no interior das garrafas (± 10 milivolts).

O metano acumulado no *headspace* da garrafa é medido recorrendo a técnicas de cromatografia gasosa, através de uma injeção de 500 μL de amostra no GC Chromopack 9000, com um detetor FID (*Flame Ionization Detector*).

Primeiramente, são injetadas, no GC e em triplicado, 0,5 mL de uma amostra padrão com 40 % de metano. Obtêm-se, então um cromatograma com os picos correspondentes as três injeções da amostra padrão. Seguidamente, é injetada a amostra, sendo que o cromatograma obtido devolve os picos correspondentes. A área dos picos obtidos é diretamente proporcional ao número de moles de metano existentes na amostra, segundo a equação 12:

$$mmol_{CH_4}(amostra) = \frac{\text{Área do pico (amostra)}}{\text{Área do pico (padrão)}} \times 0,079 \text{ mmol}_{CH_4} \quad (\text{Equação 12})$$

O valor 0,079 mmol CH_4 corresponde ao número de moles de CH_4 , existente numa injeção de 0,5 mL de amostra padrão com 40% de metano e pode ser calculado através da lei dos gases ideais, para $P=1 \text{ atm}$, $T=37^\circ\text{C}$ e $V=0,2 \text{ mL}$. Desta forma, com o número de moles existentes numa amostra é possível calcular a totalidade do número de moles existentes no *headspace* da garrafa através da equação 13:

$$mmol_{CH_4}(frasco) = \frac{V_{headspace}}{V_{amostra}} \times mmol_{CH_4}(amostra) \quad (\text{Equação 13})$$

Sabendo que uma mol de CH_4 possui uma CQO, em massa de O_2 por volume, de 64 g/nL, (Henze et al., 2002) é possível calcular a conversão do metano em mg de CQO equivalente através da equação 14:

$$CQO - CH_4(\text{mg CQO}) = mmol_{CH_4}(frasco) \times \frac{64 \text{ mg CQO}}{1 \text{ mmol}_{CH_4}} \quad (\text{Equação 14})$$

Da mesma forma, é possível calcular, através da equação 15, o potencial de produção de metano (ou BMP_{sv}, *Biochemical Methane Potential*), tendo em conta que em condições PTN, são produzidos 350 mL de CH_4 por grama de CQO consumida (Neves et al., 2002). Para além disso, este valor pode ser expresso por unidade de sólidos voláteis de substrato adicionado ou por g de CQO de substrato adicionado, de forma a facilitar a

percepção do efeito desse mesmo substrato na digestão anaeróbia. Na equação que se segue, o BMP é expresso nas unidades L/ kg, correspondendo ao volume de metano produzido por massa de SV adicionado.

$$BMP (L/kg) = \frac{CQO-CH_4(mg\ CQO)}{massa_{SV\ substrato}(kg)} \times \frac{0,35 (L\ CH_4)}{1000} \quad (\text{Equação 15})$$

Por outro lado, é possível calcular o rendimento da digestão anaeróbia, tendo em conta a produtividade em metano, através da percentagem de metanização (PM). Este valor é obtido pelo quociente entre a CQO consumida durante o processo de digestão e a quantidade de CQO adicionada inicialmente, tal como é possível observar na equação 16.

$$PM (\%) = \frac{CQO-CH_4}{CQO_{inicial}} \times 100 \quad (\text{Equação 16})$$

Por fim, no final dos ensaios, calculou-se a percentagem de solubilização, de forma a avaliar a eficácia da etapa da hidrólise no processo de digestão anaeróbia. Para isso, determinou-se a CQO solúvel de cada garrafa e avaliou-se, através da equação 17, a percentagem de CQO_{inicial} que foi solubilizada durante os ensaios de biodegradabilidade.

$$PS = \frac{CQO_{soluvel\ final} + CQO-CH_4 - CQO_{soluvel\ inicial}}{CQO_{inicial}} \quad (\text{Equação 17})$$

No entanto, uma vez que a CQO solúvel inicial dos substratos adicionados não foi medida, este parâmetro não foi contabilizado na equação anterior.

3.3.5. Ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETAR

De forma a avaliar a possível viabilidade de um sistema de digestão anaeróbia de lamas ETAR, decidiu-se fazer ensaios experimentais, aos quais fosse possível contabilizar a produção de metano de uma forma mais controlada.

Em três garrafas de 1 litro, para um volume de trabalho de 150 ml, foram colocados 75 ml de inóculo, perfazendo-se o restante volume em quantidades iguais de lamas mistas de Celeirós e de Palmeira.

Adicionalmente e também em triplicado, de forma a avaliar qual a produção do inóculo sem qualquer substrato, colocou-se também em garrafas de 1 litro, para um volume de trabalho de 150 ml, o mesmo volume de inóculo (75 ml) perfazendo-se o restante volume com água. Em ambos os ensaios foi adicionado 5 g/L de bicarbonato de sódio e 0,15 mL de Na₂S, sendo posteriormente refluxadas com N₂CO₂ (80/20 v/v) e colocadas a uma temperatura de 37 °C.

Relativamente à monitorização diária do metano produzido e à medição da MP e PS no final do ensaio, estes foram realizados, tendo em conta o procedimento descrito em 3.3.3. para os ensaios de biodegradabilidade de lama de ETAR com lama de ETA.

3.4. Métodos analíticos

3.4.1. Carência Química em Oxigénio

Um dos parâmetros utilizados para a caracterização das lamas utilizadas neste estudo foi a medição da Carência Química em Oxigénio (CQO), que permite avaliar, de uma forma relativamente simples, a quantidade de matéria orgânica existente nas mesmas, sendo apresentada nas unidades (g/ L), em massa de O₂ por volume. Para a medição deste parâmetro, no âmbito da caracterização das lamas, recorreu-se aos KITS LCK 914 (Lange) na gama de [5 a 60] g/ L, para as lamas de ETAR e [150 a 1000] mg/L para as lamas de ETA.

Começou-se por adicionar a cada um dos tubos de ensaio provenientes do Kit, 0,1 mL da lama em estudo com 0,1 mL de água destilada, colocando-se a digerir no digestor HT 2005 por 15 minutos. Ao fim desse tempo e após o arrefecimento do tubo, colocou-se no espectrofotómetro e leu-se o resultado obtido para a quantificação em CQO da amostra. Uma vez que a lama foi analisada numa diluição de 1:2, o resultado da CQO da mesma corresponde ao dobro do valor obtido pelo espectrofotómetro.

No final dos ensaios de biodegradabilidade, procedeu-se à medição da CQO solúvel, pelo que foi necessária a centrifugação prévia de todas as amostras. Assim, as

amostras foram sujeitas a uma rotação de 10000 rotações por minuto, durante 10 minutos, para permitir a deposição da matéria suspensa. Seguidamente, removeu-se 500 µL do sobrenadante de cada amostra e colocou-se no tubo do KIT correspondente, perfazendo com 1500 µL de água destilada, obtendo uma diluição de 1:4. Para este parâmetro, utilizaram-se os kits LCK nas gamas de [15 a 150] mg/ L e [150 a 1000] mg /L.

A leitura deste parâmetro foi sempre feita em duplicado.

3.4.2.Sólidos totais e Voláteis

A metodologia utilizada para a quantificação dos sólidos totais foi baseada no método 2540 B. do livro “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”. Este parâmetro permite, entre outros aspetos, determinar a quantidade em água existente na amostra. Por fim, a quantificação dos sólidos voláteis foi feita com base na metodologia descrita no capítulo 2540 E. do mesmo livro e permite obter uma aproximação fidedigna da quantidade de matéria orgânica presente na fração sólida das lamas.

Começa-se por lavar os cadinhos que serão utilizados, colocando-os posteriormente na mufla a 550 °C, durante 30 minutos, de forma a eliminar possíveis resíduos de matéria orgânica que possam contaminar a amostra. Posteriormente e após o seu arrefecimento, estes cadinhos são pesados um a um, sendo depois colocado um determinado volume, igual em todas os cadinhos. Os ensaios são feitos em triplicado.

Seguidamente os cadinhos são colocados numa estufa a 150 °C durante 24 horas, sendo eliminado durante este período, todo o conteúdo em água na amostra. Ao fim das 24 horas os cadinhos são pesados novamente, sendo obtido o conteúdo em sólidos totais da lama em estudo. Por fim, os cadinhos com a lama são novamente colocados a 550 °C, durante 2 horas, sendo eliminado, durante este período, todo o conteúdo em matéria orgânica. Ao fim deste tempo, após arrefecimento, os cadinhos são novamente pesados, sendo obtido o peso das cinzas da lama. O conteúdo em sólidos voláteis é obtido segundo a equação 18:

$$\text{Sólidos voláteis (g/L)} = \frac{\text{Peso após estufa (g)} - \text{Peso após mufla (g)}}{\text{Volume (L)}} \quad (\text{Equação 18})$$

3.4.3.Determinação da composição do gás produzido

A quantidade de metano presente no biogás produzido, ao longo de todos os ensaios realizados no âmbito desta dissertação, foi determinada por cromatografia gasosa. Para tal, utilizou-se um cromatógrafo do modelo CP 9000 CHROMPACK, com um detetor FID (*Flame Ionization Detector*) (2m x 2mm) e com um caudal de N₂ a 30 mL/min, como gás de arraste. Utilizaram-se como temperaturas de detetor, injetor e forno, 35 °C, 110 °C e 220 °C, respetivamente. Por fim, as amostras de biogás foram inseridas no cromatógrafo por injeção (V=0,5 mL), recorrendo-se a uma seringa do tipo gás-tight da marca HAMILTON.

Capítulo 4. | Ensaio de biodegradabilidade de lamas de ETA com lamas de ETAR

4.1. Caracterização dos substratos

4.2. Ensaio toxicidade de lamas de ETA

4.3. Efeito da codigestão das lamas de ETA com lamas de ETAR no potencial metanogénico

4.4. Análise em ICP do digerido

Neste capítulo são apresentados os resultados referentes à incorporação de lamas de ETA em ambientes de digestão anaeróbia. Começa-se por caracterizar todos os substratos utilizados nos diferentes ensaios, sendo que no caso das lamas de ETA, para além dos parâmetros de SV, ST e CQO, também se apresenta a caracterização elementar das mesmas, obtida por ICP. Seguidamente, são descritos os resultados obtidos para o ensaio de toxicidade, tendo em conta a atividade metanogénica das bactérias acetoclásticas, obtida para cada concentração de lama de ETA testada. No terceiro capítulo são apresentados os resultados referentes ao potencial metanogénico da codigestão de lamas de ETAR com lamas de ETA, sendo testadas diferentes concentrações das últimas.

Por fim, o composto obtido no final dos ensaios de biodegradabilidade é novamente analisado em ICP e a sua caracterização elementar é apresentada no último subcapítulo.

4.1. Caracterização dos substratos

De forma a observar o efeito das lamas de ETA em ambiente anaeróbio, realizaram-se dois tipos de ensaios, um ensaio de toxicidade e um ensaio de biodegradabilidade.

Para o ensaio de toxicidade, foi utilizado como inóculo, biomassa granular proveniente da fábrica da Sociedade Central de Cervejas, situada em Vila Franca de Xira, com uma massa de SV por massa de inóculo de $0,08 \pm 0,00$ g / g e uma atividade metanogénica, em volume de metano nas condições PTN, por massa de SV adicionado e por tempo decorrido, de 154 ± 28 mL g⁻¹ d⁻¹ para o acetato e 495 ± 31 mL g⁻¹ d⁻¹ para o H₂.

Para o ensaio de biodegradabilidade, foi utilizado inóculo composto por lamas de ETAR anaeróbias digeridas, descrito em 3.1., juntamente com lamas provenientes do caudal de entrada de um digestor anaeróbio localizado na ETAR de Espinho, com uma de CQO, em massa de O₂ por volume, de 63 ± 1 g/ L e um teor em sólidos totais e voláteis de 53 ± 1 g/L e 42 ± 1 g/L, respetivamente. Juntamente com o inóculo e a lama de ETAR, foram também adicionadas diferentes quantidades de lamas de ETA, cuja caracterização se descreve de seguida.

4.1.1. Caracterização da lama de ETA

4.1.1.1. Caracterização da lama de ETA nos parâmetros de CQO e sólidos

A lama de ETA utilizada neste projeto foi obtida da ETA de Braga, sendo posteriormente analisada tendo em conta os parâmetros de CQO e sólidos totais e voláteis. Após as análises, concluiu-se que a lama possuía uma CQO, em massa de O₂ por massa de lama de ETA, de $0,03 \pm 0,01$ g/ g e uma massa em ST e SV por massa de lama de ETA de $0,81 \pm 0,02$ g/g e $0,09 \pm 0,00$ g/g, respetivamente.

4.1.1.2. Caracterização elementar da lama de ETA por análise em ICP

A caracterização elementar da lama de ETA permite não só determinar a presença ou não de determinados elementos, como também obter a sua quantificação de uma forma muito precisa. Esta análise permite, entre outros aspetos, concluir se existem de facto determinados elementos que podem surgir como potenciais nutrientes para as bactérias responsáveis pela digestão anaeróbia e se a sua concentração atinge valores que podem representar ou não um efeito inibitório.

Para além disso, a quantificação de outros elementos, como por exemplo, metais pesados, pode ser uma restrição à deposição destas lamas após a sua digestão, nos solos, sendo portanto essencial descobrir qual a concentração inicial destes elementos antes de efetuar ensaios da sua digestão anaeróbia.

Os dados obtidos por ICP, para cada elemento testado estão descritos na tabela 10.

Tal como é possível observar, a lama de ETA possui um teor bastante elevado de cálcio e magnésio, muito provavelmente devido à adição dos produtos coagulantes e floculantes no tratamento tanto da água como da lama. Por sua vez, os segundos elementos em maiores concentrações são o ferro e alumínio, sendo que também estes podem ter surgido da adição de agentes coagulantes e floculantes em diferentes etapas do tratamento de água.

Uma vez que se pondera a aplicação do digerido resultante da codigestão de lamas de ETA com lamas de ETAR em solos agrícolas, é relevante avaliar quais as condições iniciais das lamas de ETA, mais concretamente relativamente à concentração de metais pesados. Assim, segundo o decreto-lei nº 279/2009, as lamas de ETA não poderiam ser aplicadas em solos agrícolas, uma vez que, ao contrário do que se verificou nos restantes metais pesados, o mercúrio encontra-se nas lamas a uma concentração superior aos limites estabelecidos por grama de massa seca (0,016 mg/ g) (Ministério do Ambiente, 2009).

Por outro lado, a incorporação destas lamas, praticamente químicas num processo de digestão anaeróbia, pode trazer alguns benefícios nutricionais, devido à sua composição em alguns dos nutrientes necessários ao consórcio microbiano.

Tabela 10 – Caracterização elementar da lama de ETA obtida por ICP- MS, sendo que a quantificação de cada elemento é feita em massa (μg) por massa de lama desidratada (g) (à exceção dos elementos Al, P, Mg e Fe cujas concentrações de apresentam nas unidades mg/g)

Elemento	Concentração do elemento ($\mu\text{g/g}$) *
Si	$45,4 \pm 4,3$
Al (mg/g)	$15,1 \pm 0,2$
P (mg/g)	$43,2 \pm 0,1$
Mg (mg/g)	$49,5 \pm 0,1$
Ca	402 ± 1
Na	106 ± 5
K	$66,2 \pm 2,2$
Mn	$29,0 \pm 0,4$
Zn	$62,8 \pm 0,2$
Fe (mg/g)	$12,4 \pm 0,1$
Ni	$12,7 \pm 0,1$
Pb	$0,56 \pm 0,03$
Cd	$0,05 \pm 0,00$
As	$0,04 \pm 0,00$
Hg	$2,76 \pm 0,24$
Cr	$0,63 \pm 0,05$
Co	Não detetado

*(À exceção dos elementos Al, P, Mg e Fe cujas concentrações de apresentam nas unidades mg/g).

4.2. Ensaio de toxicidade das lamas de ETA

Antes de proceder ao estudo da codigestão das lamas de ETA com lamas de ETAR, foi necessário averiguar, previamente, se poderá existir algum efeito de inibição ou toxicidade na atividade microbiológica, associado a este tipo de lama.

Assim, procedeu-se à realização de um ensaio onde foi testada a atividade do grupo das bactérias acetoclásticas, na presença do acetato como substrato, quando expostas a diferentes concentrações de lama de ETA.

Neste ensaio, foram testadas, concentrações de lama de ETA de 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 g/L.

Os resultados obtidos para a atividade, relativa a cada concentração testada, foram apresentados na ilustração 8, em forma de percentagem, tendo em conta que a percentagem de 100% (representada no gráfico da ilustração com uma reta vermelha), corresponde à atividade obtida para a concentração de lama de ETA de 0 g/L.

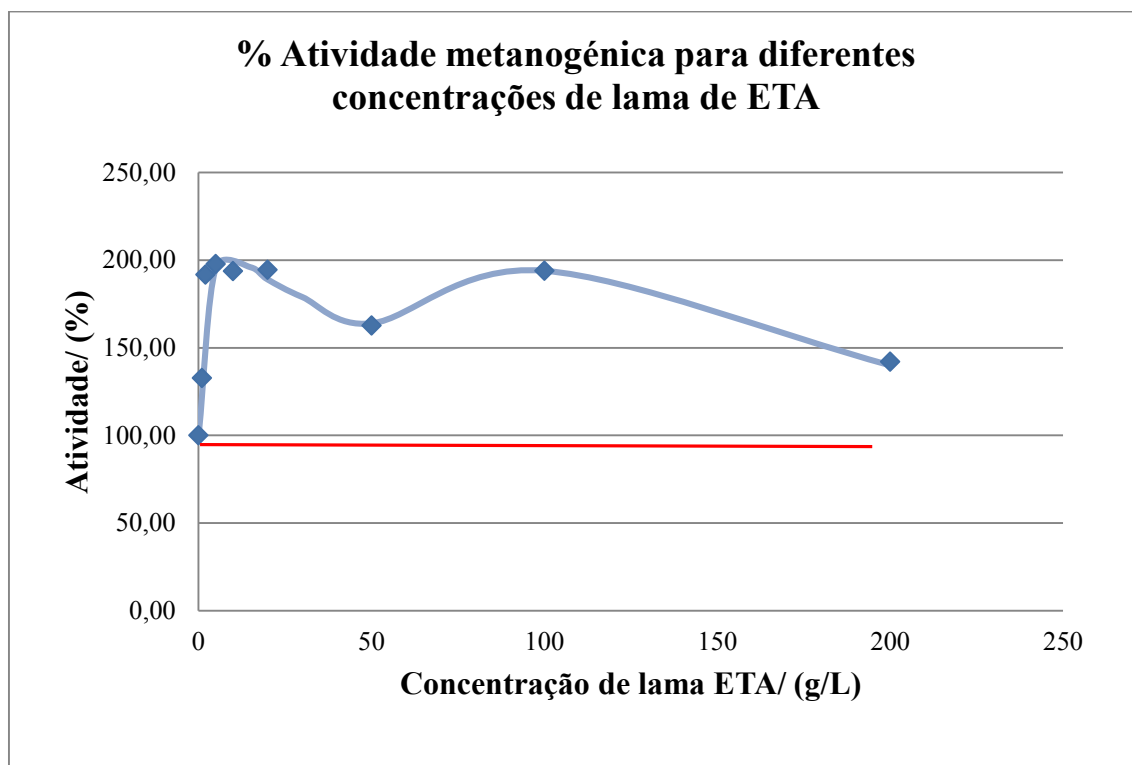


Ilustração 8 – Gráfico obtido para o ensaio de toxicidade das lamas de ETA que relaciona a atividade (em %) obtida para as diferentes concentrações de lama de ETA. A reta a vermelho representa a atividade de 100% obtida para o controlo do ensaio.

Segundo a ilustração 8, a incorporação de lamas de ETA, independentemente da concentração testada, está associada a um aumento da atividade metanogénica das bactérias acetoclásticas, indicando uma maior produtividade em metano.

Segundo os resultados obtidos, a atividade microbiana atinge o seu valor máximo para uma concentração de lamas de ETA de 5 g/L, apresentando uma atividade de quase 200%, o que comparativamente com o controlo (concentração de lama de ETA de 0 g/L), representa a obtenção do dobro da atividade metanogénica correspondente a um ambiente sem a incorporação da lama de ETA.

Seguidamente, para as concentrações de 10 e 20 g/L de lama de ETA, a atividade decresce ligeiramente, apresentando valores ainda assim na gama dos 193-194%. Para a concentração de lamas de 50 g/L, a atividade desce significativamente, rondando os 162%, tornando a subir para cerca de 193% para a concentração de 100 g/L. Por fim, para a concentração de 200 g/L, a atividade tendeu a diminuir, rondando os 142%, sendo mesmo assim, ligeiramente superior à atividade correspondente à concentração de 1 g/L e cerca 40% superior ao valor da atividade obtida pelo controlo.

Desta forma, é possível concluir que, das concentrações testadas, nenhuma mostrou ser tóxica para as bactérias acetoclásticas, mostrando, pelo contrário, ter um efeito benéfico na atividade metanogénica, estando associada a uma maior produção de metano. Uma vez que nos ensaios de atividade não são adicionados nutrientes, é possível que as lamas de ETA atuem como uma fonte nutricional ao nível de elementos como Mg, Ca, K, Fe, Zn e Ni, sendo este fator uma possível explicação para a superioridade observada na atividade metanogénica relativa à presença de lama.

Assim, uma vez que as bactérias acetoclásticas são reconhecidas como o grupo integrante da digestão anaeróbia, mais sensível à incorporação de compostos tóxicos e também o responsável por cerca de 70% da produção de metano, é possível concluir que a inclusão de lamas de ETA, não irá, muito provavelmente causar limitações ao processo global da digestão anaeróbia, podendo, adicionalmente, ter um efeito promissor no aumento da produtividade em metano no biogás.

4.3. Efeito da codigestão anaeróbia das lamas de ETA no potencial metanogénico

Com o objetivo de compreender qual o efeito das lamas de ETA na globalidade do processo de digestão anaeróbia, procedeu-se a ensaios de biodegradabilidade, nos quais foi testada a codigestão entre lamas de ETAR e lamas de ETA a diferentes concentrações (0, 10, 20, 50, 100 e 200 g/L).

A produção de metano máxima obtida por kg de SV de lama de ETAR, para cada concentração, pode ser observada na ilustração 9. Este ensaio foi monitorizado a nível da

produtividade em metano durante 23 dias. A cada valor representado no gráfico já foi retirada a produção em metano correspondente ao inóculo. Relativamente aos resultados obtidos, foi possível constatar que das concentrações de lama de ETA testadas, as concentrações de 20 g/L e 50 g/L apresentaram uma produtividade em metano superior ao controlo, sendo que para a concentração de 20 g/L se obteve uma produção em metano cerca de 34% superior à do controlo e a de 50 g/L apresentou uma superioridade ao controlo em 30%.

Todavia e tal como se pode observar na ilustração 9, mesmo para as concentrações de 100 e 200 g/L, apesar de estas apresentarem uma produtividade em metano ligeiramente inferior ao controlo, o valor mais baixo obtido é apenas 11% inferior, o que pode indicar que as lamas de ETA não provocam um efeito de toxicidade acentuada e existe espaço para a otimização do processo, através de outros procedimentos, como por exemplo a aclimação da lama de ETA ao longo do tempo.

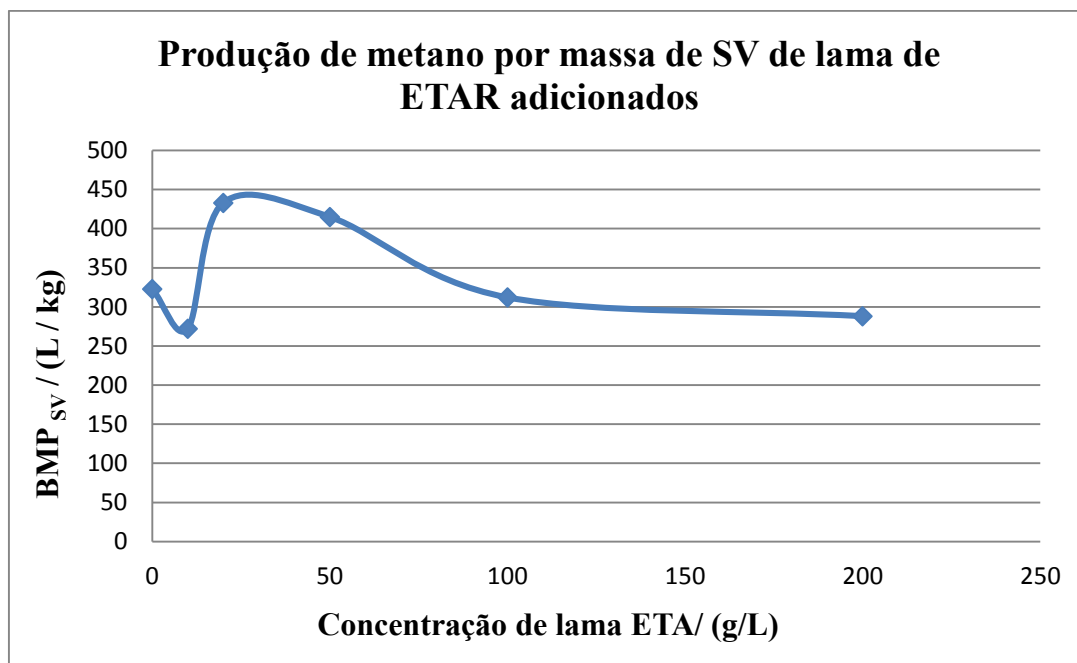


Ilustração 9 – Gráfico correspondente ao volume máximo de CH₄ produzido por massa de SV de lama de ETAR adicionados, para cada concentração de lama de ETA testada, obtidos para o primeiro ensaio de biodegradabilidade realizado.

Segundo a tabela 11 e relativamente aos valores de percentagem de metanização, que consistem na percentagem de CQO inicial que foi convertida a metano, é possível observar que a maior percentagem de metanização corresponde às concentrações de 20

g/L e 50 g/L, o que vai de encontro aos resultados observados anteriormente. Adicionalmente e também como já foi observado, para as concentrações de 100 e 200 g/L, ainda que a PM seja inferior à obtida no controlo, no caso por exemplo, da concentração de 200 g/L, esta apenas é inferior em cerca 10%.

Para ser possível comparar os resultados obtidos com dados bibliográficos, calculou-se para cada concentração o volume de metano produzido por unidade de massa de CQO adicionada, estando estes valores discriminados na tabela 11. Segundo (Carrère et al., 2010), para a digestão anaeróbia de lamas mistas, a produção típica, em volume de metano por massa de CQO adicionada, varia entre 260 e 290 L/ kg, podendo-se concluir que os resultados obtidos estão, em grande maioria, em conformidade com este valor.

Tabela 11 – Resultados experimentais obtidos no final do primeiro ensaio de biodegradabilidade da codigestão de lama de ETAR com lama de ETA

Concentração de lama de ETA							
Parâmetro	Unidades	0 g/L	10 g/L	20 g/L	50 g/L	100 g/L	200 g/L
MP	%	62 ± 9	53 ± 4	84 ± 6	80 ± 19	60 ± 9	56 ± 12
BMP _{sv}	L/ kg	323 ± 45	272 ± 21	433 ± 31	415 ± 100	312 ± 44	288 ± 60
BMP _{CQO}	L / kg	218±31	184±14	293±21	281±68	211±30	195±41

Nota: Aos valores de CQO obtidos para cada concentração de lama de ETA, foi retirado o valor de CQO correspondente ao branco, sendo que nesta tabela encontram-se os resultados desta subtração.

Ao longo deste ensaio, foi possível observar que o valor da produtividade em metano do inóculo foi extremamente elevado, resultando numa diferença pouco significativa deste com as demais concentrações testadas. Desta forma, foi possível concluir que o inóculo poderia não estar totalmente digerido o que implicaria a existência de substrato residual. Desta forma, caso o substrato residual fosse mais facilmente degradável, as bactérias anaeróbias tenderiam para o seu consumo e não para o substrato colocado inicialmente (lama de ETAR).

Esta possibilidade é suportada pelo próprio comportamento da produção de metano ao longo do tempo, devido não só à elevada produtividade do inóculo, como também pelo facto de a produção de metano de todas as garrafas ter estabilizado ao fim

de mais ao menos 8 dias. Uma vez que as lamas de ETAR, são constituídas por compostos complexos e difíceis de degradar, a etapa da hidrólise é geralmente a mais lenta de todo o processo, sendo que o TRS recomendado para a digestão anaeróbia deste tipo de lamas é de 15 a 20 dias. Portanto, um período de 8 dias é insuficiente para a obtenção da produtividade máxima de metano, caso esta originasse da degradação da lama de ETAR colocada no início do ensaio (Navaneethan, 2007; Turovsky & Mathai, 2006).

Assim devido à presença de substrato residual, é possível que o comportamento observado durante o ensaio não corresponda a degradação e consumo da lama de ETAR colocada no início do ensaio, podendo, da mesma forma ser possível, que o efeito da presença de lama de ETA observada não tenha sido conclusiva, pelo se procedeu à repetição do ensaio de biodegradabilidade.

Assim, as garrafas foram abertas, sendo colocado novamente substrato (lama de ETAR) em todas elas à exceção dos brancos e mantendo o restante conteúdo. Seguidamente, procedeu-se à lavagem do *headspace* com N_2/CO_2 (80/20 v/v) e repetiu-se o restante procedimento descrito em 3.3.2.

A produção de CH_4 foi, à semelhança do primeiro ensaio, monitorizada diariamente, durante 13 dias, sendo que os resultados obtidos em volume de CH_4 por massa de SV de lama ETAR adicionados podem ser observados na ilustração 10.

Segundo a mesma, a produtividade de metano, foi significativamente superior para a concentração de 200 g/L, não havendo uma disparidade muito acentuada entre o controlo e as restantes concentrações, ainda que estas, à exceção da concentração de lama de ETA de 10 g/L, tenham sido superiores. Tal como se pode observar na tabela 12, apenas para a concentração de lama de ETA de 10 g/L, os parâmetros medidos ao nível de BMP e MP foram extremamente semelhantes com os obtidos para o controlo (0 g/L lama ETA). Para as restantes concentrações, estes parâmetros apresentaram sempre valores superiores. No entanto, quando comparada com as restantes concentrações testadas, a concentração de lama de ETA de 200 g/L, mostrou estar associada a valores significativamente superiores tanto de BMP como de PM, o que indica que pode ter havido, de facto, alguma estimulação biológica associada à sua presença.

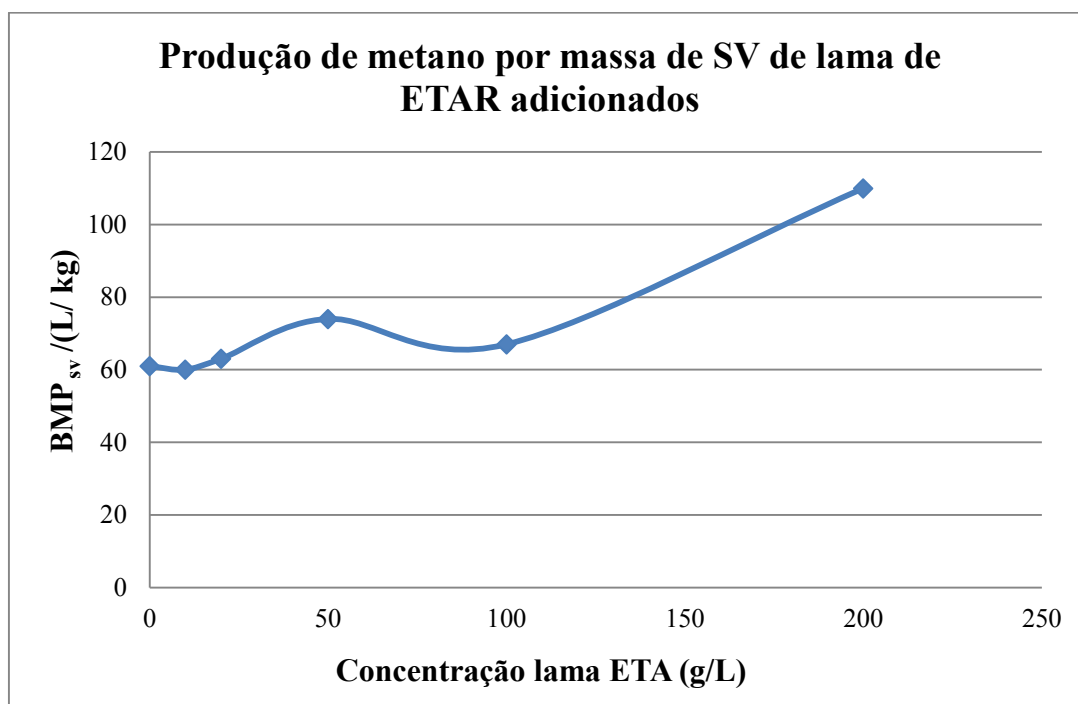


Ilustração 10 – Gráfico correspondente ao volume máximo de CH₄ produzido por massa de SV de lama de ETAR adicionados, para cada concentração de lama de ETA testada, obtidos para o segundo ensaio de biodegradabilidade realizado.

Comparando este ensaio com o anterior, é possível observar que, quantitativamente, os resultados obtidos neste segundo ensaio são bastante inferiores, sendo este facto explicado devido à influência do substrato residual existente no primeiro ensaio, que por ser mais facilmente degradável, torna a atividade metanogénica muito mais rápida, atingindo-se por isso, valores muito superiores de metano, no mesmo período de tempo.

O pH medido em todas as garrafas rondou sempre o valor de 7, pelo que é possível concluir que não houve acidificação do sistema, devido à acumulação de AGV e portanto, foi possível concluir que o pH do meio não foi em nenhum dos casos inibidor do processo.

Relativamente ao parâmetro de PS, ou percentagem de solubilização, este indica a eficiência da etapa da hidrólise na degradação das macromoléculas em moléculas solúveis e disponíveis para a etapa seguinte de digestão, permitindo determinar qual a percentagem de CQO inicial que foi eficientemente solubilizada durante os ensaios.

Segundo os resultados obtidos, quanto maior a concentração de lama de ETA, menor a PS obtida, o que vai de encontro ao esperado uma vez que a lama de ETA não é um material solúvel, apresentando-se como um bio cimento no fundo da garrafa.

À semelhança do primeiro ensaio, calculou-se também a produção de metano por unidade de massa de CQO para cada concentração de forma a conseguir comparar os valores obtidos com valores bibliográficos. Através dos resultados, concluiu-se que quando estes são comparados com a produção típica de metano por unidade de massa de CQO adicionada (entre 260 e 290 L/ kg), os valores obtidos experimentalmente são bastante inferiores. Este facto é explicado através do curto período de operação deste ensaio, que foi de aproximadamente 13 dias e também devido à dificuldade, já mencionada, na degradação deste tipo de resíduo pelas bactérias anaeróbias. Assim, caso este ensaio fosse prolongado por um período equivalente ao TRS aconselhado (15 a 20 dias) poderia ser possível obter valores de produção de metano mais aproximados ao intervalo típico anteriormente mencionado.

Para além disso, as lamas utilizadas neste segundo ensaio foram diferentes das lamas utilizadas no primeiro ensaio, devido à indisponibilidade das mesmas aquando do início do segundo ensaio. Assim, as lamas utilizadas no segundo ensaio possuíam um teor inferior (cerca de metade do valor obtido para as lamas utilizadas no primeiro ensaio) em SV e portanto eram bastante mais líquidas e com menor teor em matéria orgânica.

Todos os fatores enumerados constituem, por isso, o motivo da baixa produtividade de metano obtido para este segundo ensaio.

Tabela 12 – Resultados experimentais obtidos no final do segundo ensaio de biodegradabilidade de lama de ETAR com lama de ETA

Concentração de lama de ETA							
Parâmetro	Unidades	0 g/L	10 g/L	20 g/L	50 g/L	100 g/L	200 g/L
BMP _{SV}	L/ kg	61±5	60±4	63±6	74±35	67±6	110±8
PM	%	20±2	20±1	21±2	25±12	22±2	37±3
PS	%	78±2	78±1	62±1	51±1	36±1	28±1
pH		7,28±0,02	7,34±0,03	7,32±0,04	7,39±0,05	7,47±0,02	7,71±0,02
CQO _{solúvel}	g/ L	0,04±0,07	0,06±0,05	0,06±0,06	0,16±0,05	0,25±0,01	0,99±0,33
BMP _{CQO}	L/ kg	71 ±6	71 ±4	73 ±7	87 ±41	78±7	129±10

Nota: Aos valores de CQO obtidos para cada concentração de lama de ETA, foi retirado o valor de CQO correspondente ao branco, sendo que nesta tabela encontram-se os resultados desta subtração. Os valores de CQO_{solúvel} estão representados em massa de O_s por volume.

Relativamente à comparação dos resultados obtidos nos ensaios de biodegradabilidade com os obtidos no ensaio de toxicidade é possível concluir que a lama de ETA afetou de forma diferente o processo de digestão anaeróbia. De facto, não existem similaridades significativas nas tendências observadas no ensaio de toxicidade e nos ensaios de biodegradabilidade. Assim, enquanto que no ensaio de toxicidade a maior percentagem de atividade foi obtida para as concentrações de 10, 20 e 100 g/L, no primeiro ensaio de biodegradabilidade apenas a concentração de 20 g/L seguiu essa tendência, tomando nas restantes concentrações valores inferiores quando comparadas com o controlo. Por sua vez, quando comparados os resultados do segundo ensaio com os resultados obtidos para os ensaios de toxicidade, as tendências são bastante divergentes, quase opostas. Assim, é possível concluir que o efeito das lamas de ETA nas bactérias acetoclásticas, nas concentrações testadas foi sempre benéfico, ainda que o valor obtido para a concentração de 200 g/L sugerisse um decréscimo na atividade metanogénica, devido a uma possível inibição. No entanto, no segundo ensaio de biodegradabilidade a tendência foi completamente diferente, uma vez que para esta mesma concentração se obteve um volume de metano cerca de 80% superior ao obtido no controlo, o que sugere, tal como seria de esperar, que o consórcio microbiano anaeróbio consegue, como um todo, tolerar de uma forma mais eficaz a presença de maiores concentrações de lama de ETA.

Por outro lado, em ambos os ensaios de biodegradabilidade realizados, foi possível observar uma tendência peculiar relativamente à pressão acumulada no interior das garrafas quando comparada com a produção em metano. Normalmente, a pressão medida ao longo do tempo acompanha a tendência da produção em metano, sendo por isso, dois parâmetros proporcionais. No entanto, foi possível observar que apesar de uma produtividade em metano geralmente superior para as maiores concentrações de lama de ETA, a pressão acumulada não acompanhou esta tendência. Assim, no caso do segundo ensaio de biodegradabilidade para as concentrações de 50, 100 e 200 g/L, a pressão medida nestas garrafas foi na maioria das vezes, igual ou inferior à pressão medida no controlo, ainda que estas concentrações tivessem apresentado uma maior produtividade em metano. A título de exemplo, para a concentração de 200 g/L a pressão em milivolts foi inferior à pressão medida no controlo, em cerca de 34%, no entanto, a produção em metano foi cerca de 20% superior.

No primeiro ensaio, o fenómeno foi semelhante, sendo que comparativamente com o controlo, a pressão obtida para as maiores concentrações de lama de ETA (50, 100 e 200 g/L), tendo em conta o metano produzido foi sempre relativamente mais baixa do que o esperado.

Uma vez que a lama de ETA se trata de um material cuja composição é rica em elementos como o Ca, o Mg e o Si, levantou-se a hipótese de este material ser responsável pela sequestração mineral do CO₂ produzido durante o processo de digestão, o que resultaria numa pressão acumulada menor no interior da garrafa uma vez que o CO₂ é sequestrado e incorporado na lama de ETA, produzindo um biogás com uma maior percentagem em metano.

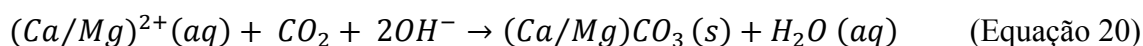
Segundo (Salek et al., 2013), a carbonatação mineral de CO₂, ou por outras palavras, sequestração mineral de CO₂, é um mecanismo que ocorre de forma natural, de forma a promover o equilíbrio da quantidade de CO₂ gasoso existente na atmosfera. Este fenómeno consiste na sequestração do CO₂ gasoso através da sua reação com minerais silicatados, formando minerais carbonatados. Os principais requisitos para a sequestração do CO₂ consistem na presença de catiões bivalentes adequados, como por exemplo o Mg²⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺ ou o Sr²⁺ e no fornecimento de alcalinidade. No entanto, em condições naturais de pH, a taxa de dissolução dos minerais silicatados e consequente libertação dos catiões bivalentes que os constituem é muito baixa, sendo este fator, juntamente com a dificuldade na obtenção da alcalinidade necessária para a captação do CO₂, os dois fatores limitantes do processo.

Desta forma, torna-se necessária a aplicação de metodologias como por exemplo, a adição de ácidos ou o aumento da área de superfície através de meios térmicos ou mecânicos, que fomentem a dissolução dos minerais silicatados, promovendo, assim, a libertação dos catiões bivalentes.

Recentemente, a aplicação de processos biológicos para a sequestração de CO₂ surgiu como uma solução pouco dispendiosa e eficiente para aumentar a taxa de dissolução dos minerais alcalinos silicatados, uma vez que nestes, ocorre a modificação das condições ambientais como, por exemplo, o decréscimo do pH, através de processos biológicos como a produção de ácidos orgânicos que promovem a acidificação necessária para que ocorra a dissolução do mineral (equação 19) (Salek et al., 2013).



No entanto, a acidificação do meio, propícia para a dissolução do mineral acaba por remover toda a alcalinidade do sistema, impedindo que ocorra a próxima fase deste processo, que consiste na sequestração do CO_2 gasoso através da sua reação com um cátion bivalente, dando origem a um mineral carbonatado (equação 20). É portanto, necessária a combinação do processo biológico com um processo que promova a alcalinidade do sistema para que ocorra a sequestração eficiente do CO_2 (Salek et al., 2013).



Existem vários processos metabólicos levados a cabo por microrganismos, que produzem alcalinidade como por exemplo, desnitrificação, produção de metano e a redução de sulfatos. Estes processos estão incluídos em várias biotecnologias, entre elas a digestão anaeróbia.

Nesta, é possível obter as duas condições necessárias para que ocorra a sequestração eficiente do CO_2 (Salek et al., 2013):

- A acidificação necessária para a dissolução do mineral silicatado, através da etapa de acidogénese, em que ocorre a formação dos ácidos gordos voláteis e que é acompanhada por um decréscimo do pH do meio;
- A alcalinidade (aumento do pH no meio) produzida na etapa de metanogénese e necessária para formação o ião carbonatado (CO_3^{2-}) a partir do CO_2 gasoso (equação 19).

A sequestração do CO_2 produzido durante a digestão anaeróbia, permite que o biogás resultante possua uma percentagem superior em metano, tal como é possível observar através da ilustração 11.

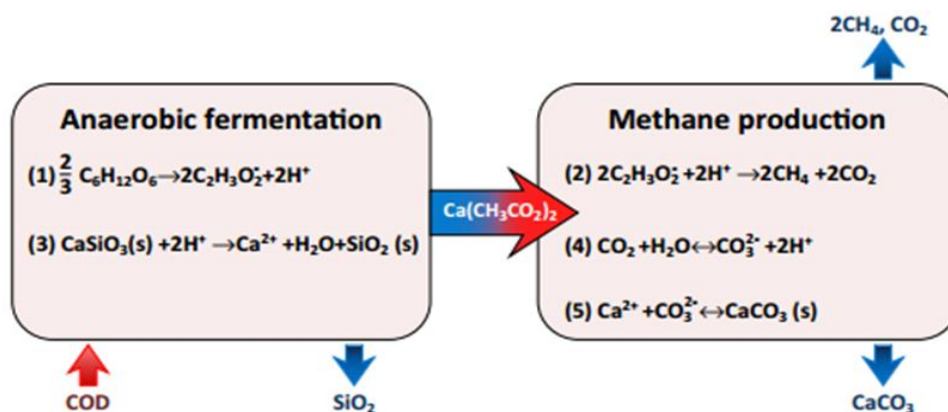


Ilustração 11 – Apresentação esquemática da sequestração estequiométrica de CO_2 no processo de digestão anaeróbia (Salek et al., 2013).

Por outro lado, também nos ensaios de toxicidade de observou que a pressão produzida no interior das garrafas com lama de ETA era ligeiramente inferior à pressão observada no controlo, ainda que a produção metanogénica fosse bastante superior. Neste caso, uma vez que só foi adicionado acetato de forma a testar a atividade das bactérias acetoclásticas, a fase acidogénica, necessária para a dissolução não teve lugar, pelo que a dissolução do mineral, ocorreu não por fenómenos químicos e mecânicos, mas apenas por mecânicos uma vez que a lama de ETA foi previamente triturada antes de ser utilizada em todos os ensaios realizados. No entanto e como seria de esperar, as diferenças de pressão vs. produção de metano, não foram tão evidentes como no caso dos ensaios de biodegradabilidade, estando este fenómeno associado apenas às concentrações de lama de ETA mais baixas (1 a 10 g/L).

Em suma, uma vez que as lamas de ETA possuem os principais elementos necessários ao processo de captação de CO_2 , como Si, Ca, Mg, Mn, Fe e uma vez que a pressão gerada no interior das garrafas com lama de ETA foi inferior ao esperado ainda que a produção em metano sugerisse o contrário, foi possível concluir que a introdução de lamas de ETA num sistema de digestão anaeróbio, promove a sequestração mineral do CO_2 produzido durante o processo, originando um biogás mais limpo, com uma maior percentagem em metano e portanto mais eficiente a nível energético.

4.4.Caracterização elementar do composto digerido por ICP

O composto digerido resultante do ensaio de biodegradabilidade com lama de ETA a 50 g/L foi analisado, ao nível da sua composição elementar, através de ICP-MS. Os elementos analisados foram os mesmos analisados para as lamas de ETA (à exceção do cobre que apenas foi analisado para esta caracterização) e os resultados obtidos podem ser observados na tabela 13.

É importante mencionar que estes resultados não foram comparados com os resultados obtidos para as lamas de ETA, uma vez que se trata de compostos diferentes. Assim, estes resultados dizem respeito ao composto resultante da digestão anaeróbia de lamas mistas de ETAR com lamas de ETA, pelo que a sua composição elementar é uma mistura dos elementos que constituem ambos os compostos, para além, obviamente, dos constituintes da solução tampão adicionada no início do ensaio de biodegradabilidade.

Através da análise da tabela 13, é possível observar que o elemento com maior percentagem na composição do digerido é o Ca (Cálcio). Este resultado é espectável uma vez que para além de as lamas de ETA possuírem elevadas concentrações Ca, este elemento poderia também estar presente nas próprias lamas de ETAR. Para além disso, a solução tampão adicionada, tal como é possível observar na tabela 9, possui também na sua constituição, entre outros, reagentes com Ca na sua composição.

O segundo elemento maioritário no composto digerido é o Si (Silício). Este elemento é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, aparecendo em materiais como argila, granito, sílica e silicatos. A concentração elevada deste elemento no composto digerido pode ser explicada não só pela presença das lamas de ETA (que possuem o Si como constituinte), como também pelas próprias lamas de ETAR, uma vez que as lamas mistas são constituídas por lamas primárias e secundárias, sendo natural que estas possuam na sua constituição areias, argilas e outros compostos do mesmo género que são recolhidos aquando do tratamento das águas residuais, através das etapas de sedimentação

Relativamente à possível aplicação do digerido em solos agrícolas e apesar de não se ter efetuado uma análise por peso seco de lama digerida (exigência do decreto-lei),

é possível prever, através dos resultados, que de todos os metais analisados, apenas o Hg (mercúrio) ultrapassa os valores limite estipulados e portanto esta aplicação poderia não seria possível. Uma vez que a concentração deste metal pesado também ultrapassou os limites de deposição em solos agrícolas quando analisado nas lamas de ETA, pode ser possível que a presença destas no digerido influencie fortemente a concentração deste metal.

Tabela 13 - Caracterização elementar, obtido por ICP-MS, do composto digerido obtido nos ensaios de biodegradabilidade da codigestão de lamas de ETAR com lamas de ETA. A quantificação de cada elemento é feita em massa (μg) por massa (g) de digerido (à exceção dos elementos Si, P, Mg e Ca cujas concentrações de apresentam nas unidades mg/ g)

Elemento	Concentração do elemento
	($\mu\text{g/g}$)
Si (mg/g)	123 ± 4
Al	177 ± 1
P (mg/g)	$11,7 \pm 0,0$
Mg (mg/g)	$35,2 \pm 0,1$
Ca (mg/g)	241 ± 1
Na	$16,5 \pm 0,2$
K	166 ± 6
Mn	$1,39 \pm 0,01$
Zn	$80,6 \pm 0,7$
Fe	$88,6 \pm 1,8$
Ni	$>0,6$
Pb	$0,41 \pm 0,01$
Cd	$>0,6$
As	$>0,6$
Cu	$3,35 \pm 0,03$
Hg	$1,67 \pm 0,19$
Cr	$1,81 \pm 0,00$

(À exceção dos elementos Si, P, Mg e Ca cujas concentrações de apresentam nas unidades mg/g).

No entanto, é importante mencionar que para além das análises aos metais pesados, existem outros parâmetros (agronómicos e a nível de microrganismos patogénicos) a analisar, exigidos no decreto-lei 276/2009 de 2 de Outubro e que teriam de ser efetuados antes de ser possível concluir sobre a aplicação deste composto em solos agrícolas.

Todavia, para além dos elementos já referidos, o digerido possui também quantidades interessantes de elementos que, aplicados em solo agrícola, funcionam como macronutrientes (K, P, Mg e Ca) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn), aumentando a produtividade do mesmo. Assim, caso fosse possível a aplicação de técnicas de remoção do Hg no composto digerido, como precipitação, adsorção ou troca iónica, a aplicação deste composto nos solos poderia ter um efeito interessante no seu enriquecimento. No entanto, este tipo de técnicas de remoção de metais tem a si associados elevados custos, pelo que a sua aplicação poderá não ser economicamente viável (Reis, 2008).

Por fim, resta mencionar que a concentração dos elementos na amostra é fortemente influenciada pela homogeneidade da mesma e portanto, uma vez que se trata de uma mistura de lamas de ETAR e ETA, sendo esta última não dissolúvel, a homogeneidade total nem sempre é alcançada pelo que algumas das concentrações obtidas, resultantes desta análise, podem ser meramente demonstrativas.

Capítulo 5. | Averiguação do potencial metanogénico de um sistema de digestão anaeróbia de lamas de ETAR

5.1. Caracterização dos substratos

5.2. Potencial metanogénico do ensaio de biodegradabilidade das lamas de ETAR

Neste capítulo é avaliado o potencial metanogénico de duas lamas de diferentes ETAR quando digeridas em conjunto. No primeiro subcapítulo encontra-se caracterização dos substratos a nível de ST, SV e CQO. Seguidamente são então, apresentados os resultados obtidos para o ensaio efetuado, tendo em conta não só o potencial metanogénico, como também outros parâmetros como a percentagem de metanização e a percentagem de solubilização.

Finalmente, os resultados foram comparados com valores bibliográficos, avaliando-se desta forma a viabilidade na implementação de um sistema de digestão das lamas em estudo. Por fim, procedeu-se a uma breve discussão sobre possíveis hipóteses de otimização do processo de forma a obter melhores resultados.

5.1. Caracterização dos substratos

Os substratos utilizados para a implementação deste sistema foram dois tipos de lama provenientes de duas ETAR de localizações diferentes (Celeirós e Palmeira). As lamas foram caracterizadas através da sua quantificação em CQO e no seu teor em sólidos totais e voláteis, sendo que estes valores podem ser observados na tabela 14. O inóculo utilizado foram lamas digeridas descritas em 3.1.

Tabela 14 - Caracterização das lamas utilizadas como substratos nos ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETAR, relativamente à sua CQO e ao teor em sólidos totais e voláteis

Tipo de lama	CQO (g/ L)	Sólidos totais (g/L)	Sólidos voláteis (g/L)
Celeirós	25,6 ± 0,6	60,2 ± 1,8	29,8 ± 1,2
Palmeira	35,8 ± 5,1	14,72*	10,47*

* Dados cedidos pela Empresa.

5.2. Potencial metanogénico do ensaio de biodegradabilidade de lamas de ETAR

Ao longo de 25 dias, período no qual decorreu este ensaio, procedeu-se à quantificação do metano produzido, tanto nos triplicados com as duas lamas estudadas, como nos triplicados com apenas o inóculo, que correspondem aos brancos desta atividade, através da análise do biogás produzido em GC.

Segundo os resultados obtidos, a digestão destas lamas possui um potencial metanogénico (BMP_{SV}) por unidade de massa de SV de 106 ± 34 L/ kg, uma percentagem de metanização (PM) de 20 ± 6 %, obtendo-se também uma percentagem de solubilização de 38 ± 6 %.

Por outro lado e de forma a possibilitar uma comparação com dados bibliográficos, calculou-se também o volume de metano produzido por unidade de massa de CQO (BMP_{CQO}), obtendo-se um valor de 70 ± 22 L/ kg. Segundo dados bibliográficos, a produtividade em metano por massa de CQO adicionada, para a digestão anaeróbia de lamas mistas varia entre 260 e 290 L/ kg (Carrère et al., 2010). Comparando

este valor com o resultado obtido experimentalmente, é possível concluir que a produtividade em metano foi relativamente baixa. Este facto não pode ser explicado com base no período de operação, uma vez que, este foi suficientemente longo (25 dias) para a obtenção do máximo potencial metanogénico possível. No entanto, é importante mencionar que as lamas utilizadas como substrato se encontravam bastante líquidas, ou seja com baixo teor em ST e SV, sendo que este fator pode, de facto, ter influenciado a produtividade de metano obtida.

Segundo (Turovsky & Mathai, 2006), o teor em SV a entrar num digestor, por volume do mesmo e por dia deve variar entre 1,6 e 3,2 kg m⁻³ d⁻¹. Assim, para um volume de trabalho de 150 mL e para um período de 25 dias, a massa de SV ideal deveria variar entre 6 a 12 g, sendo que neste ensaio, a quantidade total de SV aplicada foi de 3 g. Assim, de forma a tornar o processo de digestão anaeróbia destas lamas mais eficiente, seria necessária uma etapa espessamento das mesmas, prévia à entrada do digestor ou outro tipo de procedimento que promovesse um enriquecimento do teor em SV das lamas.

Capítulo 6. | Conclusões e recomendações

Neste capítulo são apresentadas as principais conclusões desta dissertação, assim como algumas recomendações para trabalhos futuros.

Esta dissertação teve como principal objetivo a avaliação do efeito da incorporação de lamas de ETA num sistema de digestão anaeróbio de lama de ETAR. Paralelamente, foi também realizado um ensaio para avaliar o potencial na implementação de um sistema de digestão anaeróbia de uma mistura de duas lamas de ETAR.

Através de uma análise elementar às lamas de ETA, foi possível concluir que estas têm o Ca, o Mg e o Al como principais constituintes, não apresentando concentrações significativas de componentes perigosos, como metais pesados.

O ensaio de toxicidade foi feito através da observação do efeito da introdução de lamas de ETA na atividade metanogénica das bactérias acetoclásticas. Os resultados obtidos mostram que todas as concentrações testadas (1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 e 200 g/L) têm um efeito benéfico na atividade metanogénica, apresentando valores superiores aos obtidos pelo controlo. O valor máximo de atividade foi conseguido para a concentração de 5 g/L, obtendo-se uma atividade cerca de 200% superior. Desta forma, sugere-se, para futuros trabalhos, o teste de uma maior gama de concentrações de forma a descobrir a partir de que valor, caso exista, ocorre a inibição da atividade.

Por outro lado, os ensaios de biodegradabilidade realizados mostram essa mesma tendência uma vez que na sua maioria, as concentrações de lama de ETA testadas mostram valores de produtividade em metano superiores aos obtidos pelo controlo. Este efeito, anexado à baixa pressão obtida para elevadas produtividades em metano, sugere que a presença de lama de ETA pode fomentar a ocorrência do fenómeno de sequestração mineral do CO₂ produzido, originando um biogás mais limpo devido à sua superioridade em percentagem de metano.

Sugere-se como recomendação para futuros trabalhos, a manutenção do inóculo a 37 °C, uns dias antes do início do ensaio, de forma promover a digestão completa do substrato residual, evitando-se que os brancos possuam uma produtividade em metano elevada durante os ensaios, resultante desta degradação. Por outro lado, sugere-se também o estudo de alguns métodos de pré-tratamento que podem melhorar ainda mais a produtividade do sistema.

Relativamente à análise em ICP do composto digerido, é possível concluir que este possui elevadas quantidades de Ca e Si. Para além destes elementos, o composto digerido, possui na sua composição elementos que, em solo agrícola, funcionam como macro e micronutrientes, essenciais para o crescimento da vegetação. No entanto, a sua concentração em Hg ultrapassa os valores limite estipulados na legislação e portanto a sua aplicação em solos agrícolas poderá não ser viável. Por outro lado, seria interessante a análise dos outros parâmetros estipulados no mesmo decreto-lei de forma a concluir em que outros parâmetros existe não conformidade e quais as possíveis metodologias de melhoramento, se aplicáveis, para tornar possível a aplicação deste composto em solos agrícolas.

Uma vez que se procedeu a análise em ICP do digerido (e apenas não do bio cimento formado), não foi possível obter qualquer conclusão sobre as suas possíveis aplicações ou sobre o efeito da sequestração mineral do CO₂ na composição do mesmo. Assim, numa possível continuidade deste trabalho, seria interessante uma recolha do bio cimento formado no fundo das garrafas e uma análise aprofundada ao nível da sua constituição elementar e/ou de outros parâmetros pertinentes.

Relativamente aos baixos valores de produtividade obtidos para os ensaios de biodegradabilidade de lamas de ETAR, estes permitiram concluir que seria necessária uma etapa prévia de espessamento de lamas, de forma a aumentar o teor em sólidos e otimizar o processo. Este facto foi posteriormente confirmado através da comparação dos resultados experimentais com dados bibliográficos, sendo possível concluir que as lamas estudadas possuíam um teor em SV insuficiente para uma degradação eficaz e produtiva.

Bibliografia

- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campo, J. L., Guwy, A. J., . . . Lier, v. J. (2006). Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI) Task Group Meeting. 9 to 10 October 2006. Prague (Czech Republic).
- Angelidaki, I., & Sanders, W. (2004). Assessment of the Anaerobic Biodegradability of Macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3(2), 117-129.
- Appels, L., Baeyens, J., Degre, J., & Dewil, R. (Dezembro de 2008). Principles and Potential of the Anaerobic Digestion of Waste-Activated Sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755-781.
- Appels, L., Dewil, R., & Baeyens, J. (2008). Ultrasonically Enhanced Anaerobic Digestion of Sludge. *International Journal of Sustainable Engineering*, 1(2), 94-104.
- Athanasoulia, E., Melidis, P., & Aivasidis, A. (Fevereiro de 2014). Co-Digestion of Sewage Sludge and Crude Glycerol from Biodiesel Production. *Renewable Energy*, 62, 73-78.
- Bresters, A., Coulomb, I., Matter, B., Saabye, A., Spinosa, L., Utvik, A., . . . Meozzi, P. (1997). *Sludge Treatment and Disposal - Management Approaches and Experiences*. (A. R. Bresters, Ed.) EEA (European Environment Agency).
- Burk, D. A. (Junho de 2001). *Dairy Waste Anaerobic Digestion Handbook - Options for Recovering Beneficial Products From Dairy Manure*. Obtido em 26 de Agosto de 2014, de The Midwest Rural Energy Council:
<http://www.mrec.org/pubs/dairy%20waste%20handbook.pdf>
- Carrère, H., Rafti, Y., Battimelli, A., Torrijos, M., & Delgenès, J.-P. a. (2010). Methane Potential of Waste Activated Sludge and Fatty Residues: Impact of Codigestion and Alkaline Pretreatments. *The Open Environmental Engineering Journal*, 3, 71-76.

- Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (30 de Março de 2007). Inhibition of Anaerobic Digestion Process: A Review. *Biosource Technology*, 99(10), 4040-4064.
- Coates, J., Coughlan, M., & Collieran, E. (Agosto de 1996). Simple Method for Measurements of the Hydrogenotrophic Activity of Anaerobic Sludges. *Journal of Microbiological Methods*, 26(3), 237-246.
- Collieran, E., Concannon, F., Golden, T., Geoghegan, F., Crumbliss, B., Killilea, E., . . . Coates, J. (1992). Use of Methanogenic Activity Tests to Characterize Anaerobic Sludges, Screen for Anaerobic Biodegradability and Determine Toxicity Thresholds Against Individual Anaerobic Trophic Groups and Species. *Water Science and Technology*, 25(7), 31-40.
- Costa, J. C. (2012). *Anaerobic Activity Tests*. Protocolo experimental para ensaios de actividade anaeróbia, Universidade do Minho, Laboratório de Biotecnologia Ambiental - Centro de Engenharia Biológica.
- Costa, J. C. (2012). *Anaerobic Biodegradability Assay*. Protocolo experimental para ensaios de biodegradabilidade, Universidade do Minho, Laboratório de Biotecnologia Ambiental - Centro de Engenharia Biológica.
- Dioha, J., Ikeme, C., Nafi'u, T., Soba, N., & Yusuf, S. (Setembro de 2013). Effect of Carbon to Nitrogen Ratio on Biogas Production. *International Research Journal of Natural Sciences*, 1(3), 1-10.
- Environmental Protection Agency. (Dezembro de 1996). *Wastes - Hazardous Waste - Test Methods*. Obtido em 20 de Julho de 2014, de Environmental Protection Agency: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3052.pdf>
- Environmental Protection Agency. (Setembro de 2000). *Wastewater Technology Fact Sheet Oxidation Ditches*. Obtido em 30 de Julho de 2014, de EPA - Environmental Protection Agency: http://water.epa.gov/scitech/wastetech/upload/2002_06_28_mtb_oxidation_ditch.pdf

- Ferreira, L. d. (2010). *Caracterização de Lamas de ETA's Para Aplicação na Indústria Cerâmica*. Tese de Mestrado, Universidade de Aveiro, Departamento de Geociências.
- Garg, N. K. (2009). *Multicriteria Assessment of Alternative Sludge*. Tese de Mestrado, University of Strathclyde, Department of Mechanical Engineering.
- Gonçalves, A., Esteves, A. M., & Carvalho, M. (2004). Incorporation of Sludges From a Water Treatment Plant in Cement Mortars. Em C. F. Enric Vázquez, *PRO 40: International RILEM Conference on the Use of Recycled Materials in Buildings and Structures* (Vol. 2). Barcelona, Espanha: RILEM Publications.
- Haandel, A. v., & Lubbe, J. v. (2007). Chapter 8 -Sludge Treatment. Em *Handbook Biological Wastewater Treatment - Design and Optimisation of Activated Sludge Systems* (pp. 377-380). IWA Publishing.
- Hearns, E. C. (2006). *Focus on Biotechnology Research*. New York: Nova Science Publishers.
- Henze, M., Loosdrecht, M. C., Ekama, G., & Brdjanovic, D. (2008). *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. IWA Publishing.
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (Agosto de 2011). The Anaerobic Digestion of Solid Organic Waste. *Waste Management*, 31(8), 1737–1744.
- Korres, N., O'Kiely, P., Benzie, J. A., & West, J. S. (2013). *Bioenergy Production by Anaerobic Digestion: Using Agricultural Biomass and Organic Wastes*. Routledge.
- Kyncl, M. (2008). Opportunities for Water Treatment Sludge Re-Use. Em *GeoScience Engineering* (Vol. LIV, pp. 11-22). Ostrava.
- Lebiocka, M., & Piotrowicz, A. (2012). Co-Digestion of Sewage Sludge and Organic Fraction of Municipal Solid Waste. A Comparison Between Laboratory and Technical Scales. *Environmental Protection Engineering*, 38(4), 157-162.

- Lettinga, G., Zeeuw, W., & Ouborg, E. (1981). Anaerobic Treatment of Wastes Containing Methanol and Higher Alcohols. *WaterRes*, 15(2), 171-182.
- McCarty, P. L. (1964). *Anaerobic Waste Treatment Fundamentals*. PUBLIC WORKS.
- Mes, T., Stams, A., J.H, R., & Zeeman, G. (2003). Methane Production by Anaerobic Digestion of Wastewater and Solid Wastes. Em *Biomethane and Biohydrogen. Status and Perspectives of Biological Methane and Hydrogen Production* (pp. 58-102). Dutch Biological Hydrogen Foundation, Energy Research Centre oh The Netherlands, Netherlands: Reith, J.; Wijffels, R.; Barten H.
- Metcalf, & Eddy. (2002). *Wastewater Engineering - Treatment and Reuse - International Edition*. McGraw Hill Higher Education, 4th Edition.
- Mignone, N. A. (2005). *Biological Inhibition/Toxicity Control in Municipal Anaerobic Digestion Facilities*. Alabama Water and Pollution Control Association.
- Ministério do Ambiente. (1 de Agosto de 1998). *DRE*. Obtido em 31 de Maio de 2014, de Diário da República Eletrónico:
<http://www.dre.pt/pdf1s/1998/08/176A00/36763722.pdf>
- Ministério do Ambiente, d. o. (2 de Outubro de 2009). *DRE*. Obtido em 18 de Setembro de 2014, de Diário da Republica Eletrónico:
<http://dre.pt/pdf1s/2009/10/19200/0715407165.pdf>
- Moletta, R. (1998). *Anaerobic Digestion - Monitoring and Control*. Artigo científico, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement , Narbona, França.
- Monnet, F. (Novembro de 2003). *An introduction to Anaerobic Digestion of Organic Wastes*. Obtido em 19 de Agosto de 2014, de Biogasmax- A driving force:
http://www.biogasmax.co.uk/media/introanaerobicdigestion__073323000_1011_24042007.pdf
- Navaneethan, N. (2007). *Aerobic Digestion of Waste Activated Aludge with Ultrasonic Pretreatment*. Tese de Mestrado, Asian Institute of Technology, School of Environment, Resources and Development, Thailand.

- Neczaj, E., Bien, J., Grosser, A., Worwag, M., & Kacprzak. (2012). Anaerobic Treatment of Sewage Sludge and Grease Trap Sludge in a Continuous Co-Digestion. *Global Nest Journal*, 14(2), 141-148.
- Neves, L., Oliveira, R., Mota, M., & Alves, M. (2002). *Anaerobic Biodegradability of Kitchen Waste*. Artigo científico, Universidade do Minho, Centro de Engenharia Biológica, Braga.
- Nilsson, C., & Dahlstrom, H. (2005). *Treatment and Disposal Methos for Wastewater Sludge in the Area of Beijing, China*. Tese de Mestrado, Lund University, Department of Water and Environmental Engineering, Lund, Suécia.
- Olsson, J., Shabiimam, M. A., E., N., & Thorin, E. (Novembro de 2013). Co-Digestion of Cultivated Microalgae and Sewage Sludge from Municipal Waste Water Treatment. *Bioresource Technology*, 171, 203-210.
- Ostrem, K. (2004). *Greening Waste: Anaerobic Digestion for Treating the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. Tese de Mestrado, Fu Foundation of School of Engineering and Applied Science, Columbia University, Department of Earth and Environmental Engineering, New York, USA.
- Owen, W. F., Stuckey, D., Healy, J., Young, L. Y., & McCarty, P. L. (1978). Bioassay for Monitoring Biochemical Methane Potential and Anaerobic Toxicity. *Water Research*, 485-492.
- Pinheiro, C., Mendes, D., Matos, J., Mota, J., Fernandes, L., & Pinheiro, R. (2009). *Disponibilidade de Água Doce- A Vulnerabilidade e a Escassez de Água Doce São Reais em Portugal? Relatório para projeto FEUP*, Universidade do Porto, Faculdade de Engenharia, Porto.
- Qamaruz-Zaman, N., & Milke, M. W. (2008). *Digested Sewage Sludge as Seed for Batch Test of Anaerobic Biodegradability*. Obtido em 23 de Agosto de 2014, de University of Canterbury Research Repository: <http://ir.canterbury.ac.nz/handle/10092/2018>
- Reis, P. (2008). *Estudo da Remoção e Fixação de Mercúrio Usando Hidroxiapatitas Modificadas Como Adsorventes Específicos*. Tese de Doutoramento,

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Química, Brasil.

- Ribeiro, C. M. (10 de Novembro de 2005). *Estabelecimento de Uma Rotina Laboratorial Para Análise Química de Sedimentos e Sua Aplicação a Sedimentos Continentais do Minho (NW Portugal): Contribuição para a Reconstituição Paleoambiental da Região*. Obtido em 05 de Setembro de 2014, de Repositorium: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/7381/5/5-M%C3%A9todos.pdf>
- Salek, S. S., Kleerebezem, R., Jonkers, H. M., & Witkamp, G.-j. a. (Março de 2013). Mineral CO₂ Sequestration by Environmental Biotechnological Processes. *Trends in Biotechnology*, 31(3), 139-146.
- Statista. (2014). *Annual Water Consumption Per Capita in Selected Countries (in cubic meters)**. Obtido em 17 de Junho de 2014, de Statista: <http://www.statista.com/statistics/263156/water-consumption-in-selected-countries/>
- Statista. (2014). *Statistics and Market Data about Water & Wastewater*. Obtido em 17 de Junho de 2014, de Statista: <http://www.statista.com/markets/408/topic/950/water-wastewater/>
- Suryawanshi, P., Chaudhari, A. B., & T.Y., Y. (Março de 2013). Operation, Operating Procedures for Efficient Anaerobic Digester. *Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences*, 1(2), 12-15.
- Szucs, B. R., Simon, M., & Fuleky, G. (2012). Co- Digestion of Organic Waste and Sewage Sludge by Dry Batch Anaerobic Treatment. Em D. S. (Ed.), *Management of Organic Waste* (pp. 98-112). Shangai, China, Hungary: InTech.
- The National Non-Food Crops Centre (NNFCC). (s.d.). *Types of AD*. Obtido em 01 de Outubro de 2014, de Anaerobic Digestion - The Official Information Portal on Anaerobic Digestion: <http://www.biogas-info.co.uk/types-of-ad.html>
- Towsend, T., Jang, Y.-C., Jain, P., & Tolaymat, T. (2001). *Characterization of Drinking Water Sludges for Beneficial Reuse and Disposal*. Publicação, State University

System of Florida, The Florida Center for Solid and Hazardous Waste Management, Florida, EUA.

Turovsky, I. S., & Mathai, P. K. (2006). *Wastewater Sludge Processing*. John Wiley & Sons.

Usman, K., Khan, S., Ghulam, S., Khan, M., Khan, N., Khan, M. A., & Khalil, S. (2012). Sewage Sludge: An Important Biological Resource for Sustainable Agriculture and Its Environmental Implications . *American Journal of Plant Sciences*, pp. 1708-1721.

Verlicchi, P., & Masotti, L. (2 de Março de 2012). *Reuse of Drinking Water Treatment Plants Sludges in Agriculture: Problems, Perspectives and Limitations*. Obtido em 24 de Junho de 2014, de RAMIRAN - Research Network on Recycling of Agricultural and Industrial Residues in Agriculture: <http://www.ramiran.net/doc00/Documents/Session%20I/PA4.pdf>

Verma, S. (2002). *Anaerobic Digestion of Biodegradable Organics in Municipal Solid Wastes*. Tese de Mestrado, Columbia University, Department of Earth & Environmental Engineering, Colombia.

Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., & Jones, D. L. (Novembro de 2008). Optimisation of the Anaerobic Digestion of Agricultural Resources. *Bioresource Technology*, 99(17), 7928-7940.

White, J. (2011). *Biogas Generation Potential of Coconut Copra in the Anaerobic Digestion Process*. Tese de Mestrado, University of Canterbury, Departement of Civil Engineering, Christchurch, Nova Zelândia.

Wilson, T., Shields, P., & Thompson, D. (September de 2006). *Biosolids Technology Fact Sheet Multi-Stage Anaerobic Digestion*. Obtido em 10 de Agosto de 2014, de United States Environmental Protection Agency: http://water.epa.gov/scitech/wastetech/upload/2006_10_16_mtb_multi-stage.pdf

Yang, Y., Tomlinson, D., Kennedy, S., & Zhao, Y. (Junho de 2006). Dewatered alum sludge: A Potential Adsorbent for Phosphorus Removal. *Water Science Technology*, 54, 207-213.

Zhao, Q., Leonhardt, E., MacConnell, C., Frear, C., & Chen, S. (2010). *Chapter 9: Purification Technologies for Biogas Generated by Anaerobic Digestion*. Improving the Carbon Footprint of Agriculture in the Pacific Northwest - Final Report, Washington State University, Center for Sustaining Agriculture and Natural Resources, USA. Obtido de Climate Friendly Farming – Final Report "Improving the Carbon Footprint of Agriculture in the Pacific Northwest": <http://csanr.wsu.edu/publications/researchreports/CFF%20Report/CSANR2010-001.Ch09.pdf>