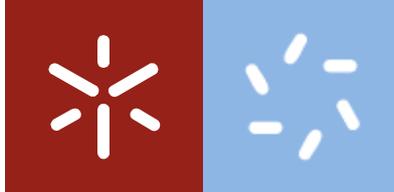


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Luciana Maria Guimarães Faria

**Avaliação da biodegradabilidade
de cápsulas de café constituídas
por polímeros biodegradáveis**



Universidade do Minho

Escola de Ciências

Luciana Maria Guimarães Faria

**Avaliação da biodegradabilidade
de cápsulas de café constituídas por
polímeros biodegradáveis**

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho realizado sob a orientação da
Professora Doutora Ana Paula Bettencourt
e da
Doutora Joana Maria Freitas Carvalho

Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição
CC BY

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à orientadora da Universidade do Minho, a Professora Doutora Ana Paula Bettencourt pela ajuda, e disponibilidade demonstrada ao longo deste percurso.

À Doutora Joana Carvalho por me ter permitido a realização deste estágio na empresa CVR – Centro para a Valorização de Resíduos.

Ao Investigador André Ribeiro por me ter acompanhado ao longo deste ano de estágio, por todos os conhecimentos que me transmitiu, disponibilidade e acompanhamento demonstrados.

A todos os colaboradores do CVR por toda a simpatia demonstrada, por sempre me sentir bem acolhida.

Por fim, agradeço a toda a minha família e amigos, que permitiram a realização dos meus sonhos oferecendo sempre o apoio que precisei, contribuindo assim para o culminar de mais um capítulo da minha vida académica.

Declaração de integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Título

Avaliação da biodegradabilidade de cápsulas de café constituídas por polímeros biodegradáveis

Resumo

O plástico é um material polivalente podendo ser utilizado numa ampla gama de produtos sob várias formas e tipos. Apesar da tendência crescente da produção de plástico existem problemas associados à sua produção, utilização e deposição. As principais fontes de matéria-prima para a produção são finitas. São adicionados aditivos aos polímeros, que podem ser prejudiciais para a saúde e meio ambiente. Adicionalmente o consumo de plástico pela sociedade está a gerar problemas de gestão de resíduos pois a nossa capacidade de deposição é finita. Os bioplásticos apresentam-se como uma alternativa aos plásticos convencionais, com propriedades térmicas e mecânicas similares, são sustentáveis, reduzem a pegada de carbono, são em grande parte baseados em matéria-prima renovável e reduzem o risco de poluição e para a saúde humana.

Neste trabalho foi avaliada a biodegradabilidade de dois bioplásticos, o polihidroxialcanoato, PHA e o ácido polilático PLA, (doravante designado pelo seu nome comercial – APIMAT) que fazem parte da constituição de duas cápsulas comerciais de café. A biodegradabilidade destes materiais foi avaliada segundo duas normas, a ISO 14855:2012 – Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem – Método da análise do dióxido de carbono libertado, onde o dióxido de carbono libertado foi medido através de um analisador de carbono e por titulação potenciométrica e a ISO 15985:2014 - Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia de alto teor de sólidos – Método de análise do biogás libertado. Para caracterizar os materiais em teste foram também utilizadas técnicas como a análise elementar do carbono, hidrogénio e nitrogénio, e foi calculado o teor de humidade, sólidos secos e sólidos voláteis.

Os resultados obtidos permitem constatar que, tanto o PHA como o APIMAT apresentam um grande potencial para constituírem cápsulas de café biodegradáveis, visto que estes materiais apresentaram altas percentagem de biodegradação. Esta percentagem foi de 95% para o PHA e de 85% para o APIMAT, segundo a norma ISO 14855:2012. Relativamente ao ensaio de avaliação da biodegradabilidade utilizando a norma ISO 15985:2014, este não cumpriu os critérios para ser considerado válido durante o período do ensaio (90 dias), mas é de realçar que os materiais PHA e APIMAT apresentaram potencial para serem biodegradados, por isso não seria de descartar uma repetição deste ensaio com os mesmos materiais, mas com um tempo de operação superior.

Palavras-chave: Plástico, Biodegradabilidade, PHA, PLA.

Title

Evaluation of the biodegradability of coffee capsules composed by biodegradable polymers

Abstract

Plastic is a multipurpose material and can be used in a wide range of products and various shapes and types. Despite the growing trend in plastic production there are problems associated with its production, use and deposition. The main source of raw material for production is finite. Additives are added to polymers, which can be harmful to health and the environment. In addition, the consumption of plastic by society is generating waste management problems because our deposition capacity is finite. Bioplastics are an alternative to conventional plastics, with similar thermal and mechanical properties, are sustainable, reduce the carbon footprint, are largely based on renewable raw materials and reduce the risk of pollution and human health.

In this work, the biodegradability of two bioplastics was evaluated, polyhydroxyalkanoate, PHA, and polylactic acid, PLA (from now on the PLA polymer will be designated by its trade name – APIMAT) which are part of the constitution of two commercial coffee capsules. The biodegradability of these materials was evaluated according to ISO 14855:2012 - Determination of the final aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions - Method by analysis of evolved carbon dioxide, where the released carbon dioxide was measured through a carbon analyzer and potentiometric titration and ISO 15985:2014 - Determination of the ultimate anaerobic biodegradation under high-solids anaerobic-digestion conditions - Method by analysis of released biogas. To characterize the materials under test were also used techniques such as the elemental analysis of carbon, hydrogen and nitrogen, and the moisture content, dry solids and volatile solids were calculated.

The results obtained show that both PHA and APIMAT have a great potential to constitute biodegradable coffee capsules, since these materials presented high percentage of biodegradation. This percentage was 95% for PHA and 85% for APIMAT, according to ISO 14855:2012. Regarding the biodegradability assessment test using ISO 15985:2014, it did not meet the criteria to be considered valid during the test period (90 days), but it should be noted that PHA and APIMAT materials had the potential to be bio degraded, so it would not be necessary to rule out a repetition of this test with the same materials, but with a longer operating time.

Keywords: Plastic, Biodegradability, PHA, PLA.

Índice Geral

Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros	ii
Agradecimentos.....	iii
Declaração de integridade	iv
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Índice Geral.....	vii
Índice de Figuras.....	x
Índice de Tabelas	xiv
Lista de Siglas e Abreviaturas	xvi
Capítulo 1 - Introdução	1
1.1. Objetivo da tese	2
1.2. Apresentação da empresa	3
1.3. Plástico.....	6
1.3.1. Composição e matérias-primas para a produção do plásticos	6
1.3.2. Consumo de plástico	7
1.3.3. Aditivos	11
1.3.4. Macroplásticos e microplásticos.....	14
1.3.5. Gestão dos resíduos e futuro do plástico	16
1.4. Bioplásticos.....	18
1.4.1. Polihidroxialcanoato.....	21
1.4.2. Ácido Polilático	24
1.5. Métodos de avaliação da biodegradabilidade.....	27
1.5.1. Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem – Método da análise de dióxido de carbono libertado (ISO 14855:2012).....	30

1.5.2.	Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia de alto teor de sólidos – Método de análise do biogás libertado (ISO 15985:2014)	36
Capítulo 2 - Parte Experimental		39
2.1.	Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem (ISO 14855:2012)	40
2.1.1.	Preparação do inóculo	40
2.1.2.	Preparação do material teste e material de referência	41
2.1.3.	Procedimento do ensaio	42
2.1.4.	Análise dos sólidos secos totais e teor de humidade.....	44
2.1.5.	Análise dos sólidos voláteis.....	45
2.1.6.	Determinação do dióxido de carbono libertado através da titulação potenciométrica ...	47
2.1.8.	Determinação do carbono, hidrogénio e nitrogénio através de análise elementar	49
2.1.9.	Determinação da percentagem de perda de massa segundo a norma ISO 14855:2012.....	50
2.2.	Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia e alto teor de sólidos (ISO 15985:2014)	53
2.2.1.	Preparação do inóculo	53
2.2.2.	Preparação do material teste e material de referência	53
2.2.3.	Procedimento dos ensaios	53
2.2.4.	Determinação da percentagem de perda de massa segundo a norma ISO 15985:2014.....	56
Capítulo 3 - Apresentação e discussão dos resultados		58
3.1.	Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem (ISO 14855:2012)	59
3.1.1.	Caracterização do inóculo.....	59
3.1.2.	Caracterização dos materiais em teste e determinação da quantidade teórica de dióxido de carbono que pode ser produzido	61
3.1.3.	Quantidade de dióxido de carbono libertado e percentagem de biodegradação	63

3.1.4.	Determinação do dióxido de carbono libertado através da titulação potenciométrica ...	69
3.1.5.	Determinação da perda de massa da matéria orgânica dos materiais em teste.....	71
3.1.6.	Validação dos resultados	73
3.2.	Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia e alto teor de sólidos (ISO 15985:2014)	75
3.2.1.	Caracterização do inóculo.....	75
3.2.2.	Quantidade de carbono nos materiais em teste introduzida nos frascos.....	75
3.2.3.	Quantidade de biogás libertado.....	76
3.2.4.	Percentagem de biodegradação	78
3.2.5.	Determinação da percentagem de perda de massa	82
3.2.6.	Validação dos resultados	84
Capítulo 4 - Conclusões		85
Capítulo 5 - Bibliografia		88
Capítulo 6 – Anexos		97
6.1.	Quantidade de dióxido de carbono libertada nos ensaios de biodegradabilidade determinada utilizando o analisador de carbono	98
6.2.	Percentagem de biodegradação calculada segundo a norma ISO 14855:2012.....	100
6.3.	Quantidade de dióxido de carbono libertada nos ensaios de biodegradabilidade determinada através da titulação potenciométrica	102
6.4.	Quantidade de biogás libertado nos ensaios de biodegradabilidade	104
6.5.	Percentagem de biodegradação segundo a norma ISO 15985:2014.....	107

Índice de Figuras

Figura 1 - Instalações do Centro para a Valorização de Resíduos.	5
Figura 2 - Principais produtos poliméricos derivados do etileno e seus subprodutos propileno e butadieno. Nem todos os reagentes ou produtos são assinalados (Adaptada de [2]).	7
Figura 3 - Exigência de plástico por secções e por tipos de polímeros em 2018, dados para a Europa 28 países com a exceção da Noruega e Suíça (Adaptada de [7]).	10
Figura 4 - Produção mundial de plástico entre 1950 e 2012, inclui termoplásticos, poliuretanos, termoendurecíveis, elastómeros, adesivos, revestimentos e vedantes e fibras de polipropileno. Não inclui fibras de poliacrilo, de polietileno de tereftalato, poliamidas (Adaptada de [10]).	10
Figura 5 - Distribuição global da produção de plástico em 2018, Inclui termoplásticos, poliuretanos, termoendurecíveis, elastómeros, adesivos, revestimentos e vedantes e fibras de polipropileno. Não inclui fibras de poliacrilo, de polietileno de tereftalato, poliamidas (Adaptada de [7]).	11
Figura 6 - Distribuição global da produção de bioplástico em 2019, por tipo de material (Adaptada de [26]).	19
Figura 7 - Ciclo de vida dos bioplásticos (Adaptada de [27]).	20
Figura 8 - Estrutura do PHA (Adaptada de [28]).	21
Figura 9 - Esquema de formação de PHA (Adaptada de [31]).	22
Figura 10 - Ciclo de produção e biodegradação do PHA (Adaptada de [29]).	23
Figura 11 - Estrutura química do L(+) e D(-)ácido láctico (Adaptada de [35]).	24
Figura 12 - Processos de produção de PLA (1) Poli-condensação do ácido láctico (2) Reação da abertura do anel do lactideo (Adaptada de [34]).	25
Figura 13 - Esquema do mecanismo de biodegradação de polímeros (Adaptada de [37]).	26
Figura 14 - Esquema das fases de biodegradação (Adaptada de [39]).	27
Figura 15 - Gestão dos resíduos dos plásticos biodegradáveis (Adaptada de [38]).	28
Figura 16 - Curva de biodegradação do bioplástico (Adaptada de [43]).	30
Figura 17 - Curva da evolução do CO ₂ (Adaptada de [43]).	31
Figura 18 - Sistema para determinar o CO ₂ libertado (Adaptada de [43]).	31
Figura 19 - Eléctrodo combinado de vidro para a medição de pH (Adaptada de [47]).	33
Figura 20 - Gráfico com a adição dinâmica de titulante (Adaptada de [49]).	34
Figura 21 - Diagrama de funcionamento de um analisador de carbono (Adaptada de [55]).	35
Figura 22 - Esquema da configuração de um analisador elementar (Adaptada de [56]).	36

Figura 23 - Sistema de montagem para a digestão anaeróbia sob alto teor de sólidos (Adaptada de [59]).	37
Figura 24 - Medidor de pH <i>HANNA HI 98160</i>	41
Figura 25 - Material de referência e materiais em teste utilizados, PHA e APIMAT, da esquerda para a direita.....	41
Figura 26 - Materiais em teste (APIMAT e PHA) e material de referência (celulose) nos frascos de compostagem, da esquerda para a direita.....	42
Figura 27 - Frascos de compostagem antes de iniciar o ensaio, da esquerda para a direita em primeiro o APIMAT, seguido do PLA, celulose e branco.	42
Figura 28 - Sistema de montagem do ensaio. Legenda: 1- Frasco em branco; 2 – Frasco com material de referência; 3 – Frasco com PHA; 4 – Frasco com APIMAT; 5 – Tubos de passagem de ar livre de CO ₂ ; 6 – Tubo de saída de gás; 7 – Frascos com Ba(OH) ₂	43
Figura 29 - Sistema de montagem real utilizado no ensaio.	44
Figura 30 - Estufa <i>Stericell MMM Medcenter</i>	45
Figura 31 - Mufla <i>Termolab</i>	46
Figura 32 - Cadinhos com as amostras (conteúdo dos frascos) antes de serem colocados na mufla. .	46
Figura 33 - Titulador automático <i>Titroline 5000 SI Analytics</i>	47
Figura 34 - Analisador de carbono <i>Shimadzu TOC-V CSH</i>	48
Figura 35 - Curva de calibração do carbono inorgânico realizada pelo software <i>TOC-V</i>	49
Figura 36 - Analisador elementar <i>TruSpec CHN Leco</i>	49
Figura 37 - Folhas de estanho.....	50
Figura 38 - Frascos de compostagem antes de iniciar o ensaio.....	54
Figura 39 - Sistema de configuração do ensaio.	54
Figura 40 - <i>Ritter MilliGascounter</i>	55
Figura 41 - Esquema do sistema de medição <i>Ritter Milligascounter</i>	55
Figura 42 - Materiais em teste antes de serem colocados na estufa, para os ensaios de sólidos secos totais e teor de humidade. Da esquerda para a direita: celulose (material de referência), PHA e PLA (designado por APIMAT).	61
Figura 43 - Materiais em teste depois de serem colocados na estufa, para os ensaios de sólidos secos totais e teor de humidade. Da esquerda para a direita tem-se a celulose (material de referência), o PHA e o PLA (designado por APIMAT).....	62

Figura 44 - Materiais em teste antes de serem colocados na mufla, para os ensaios de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita tem-se o PHA, APIMAT e celulose (material de referência).	62
Figura 45 - PHA e APIMAT depois de serem colocados na mufla, para os ensaios de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita tem-se o PHA e o APIMAT.	62
Figura 46 - Quantidade de dióxido de carbono libertado nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia, determinada através da medição com um analisador de carbono, em função do tempo do ensaio.	64
Figura 47 - Percentagem de biodegradação da celulose ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade aeróbia.	64
Figura 48 - Percentagem de biodegradação do material em teste, PHA, ao longo do tempo no ensaio de biodegradabilidade aeróbia.	65
Figura 49 - Percentagem de biodegradação do material em teste, APIMAT, ao longo do tempo no ensaio de biodegradabilidade aeróbia.	66
Figura 50 - Percentagem de biodegradação ao longo do tempo para a celulose, o PHA e o APIMAT nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.	66
Figura 51 - Massa de dióxido de carbono libertado nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia, determinada através do método de titulação potenciométrica, em função do tempo do ensaio.	70
Figura 52 - Conteúdo dos frascos no fim do ensaio de biodegradabilidade aeróbia, da esquerda para a direita, encontra-se o branco, a celulose, o PHA e o APIMAT.	71
Figura 53 - Copos com o conteúdo dos frascos após estarem na estufa, para a determinação dos ensaios de sólidos secos totais e teor de humidade. Da esquerda para a direita, encontra-se o APIMAT, o branco, a celulose e o PHA.	71
Figura 54 - Cadinhos com o conteúdo dos frascos após estarem na mufla para a determinação de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita encontra-se o APIMAT, o branco, a celulose e o PHA.	72
Figura 55 - Quantidade de biogás libertado em função da duração do ensaio, nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.	77
Figura 56 - Percentagem de biodegradação do material de referência, a celulose ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade anaeróbia.	78
Figura 57 - Percentagem de biodegradação do material em teste PHA, ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade anaeróbia.	79
Figura 58 - Percentagem de biodegradação do material em teste APIMAT, ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade anaeróbia.	79

Figura 59 - Percentagem de biodegradação ao longo do tempo para a celulose, PHA e APIMAT, nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia	80
Figura 60 - Frascos no fim dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia, da esquerda para a direita, encontra-se o branco, a celulose, o PHA e o APIMAT.....	82
Figura 61 - Copos com o conteúdo dos frascos antes de estarem na estufa, para a determinação dos sólidos secos totais e do teor de humidade. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.....	82
Figura 62 - Copos com o conteúdo dos frascos depois de estarem na estufa, para a determinação dos sólidos secos totais e do teor de humidade. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.....	83
Figura 63 - Cadinhos com o conteúdo dos frascos antes de estarem na mufla para a determinação de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.	83
Figura 64 - Cadinhos com o conteúdo dos frascos depois de estarem na mufla para a determinação de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.	83

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição da exigência de plástico por tipos de resina em 2018, dados para a Europa 28 países com a exceção da Noruega e Suíça (Adaptado de [10]).	8
Tabela 2 - Lista dos polímeros mais comuns produzidos e os aditivos associados. (Adaptado de [16]).	12
Tabela 3 - Produção global de bioplásticos em 2019 por área de aplicação (Adaptado de [29]).	19
Tabela 4 - Opções de tratamento biológico de resíduos (Adaptado de [42]).	28
Tabela 5 - Quantidade de material em teste e inóculo em cada frasco de compostagem.	43
Tabela 6 - Quantidade de material em teste e inóculo em cada frasco.	54
Tabela 7 - Características do inóculo utilizado e valores recomendados pela ISO 14855:2012.	59
Tabela 8 - Características dos materiais em teste utilizados, celulose (material de referência), PHA e APIMAT.	62
Tabela 9 - Valores de quantidade teórica de dióxido de carbono que pode ser produzido (ThCO_2) de cada material em teste.	63
Tabela 10 - Duração das fases <i>lag</i> e degradação, da quantidade teórica de CO_2 que pode ser produzido, produção total de CO_2 e percentagem máxima de biodegradação para os três materiais, celulose, PHA e APIMAT nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.	67
Tabela 11 - Massa do conteúdo dos frascos, teor de humidade, sólidos voláteis e sólidos secos totais no fim dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.	72
Tabela 12 - Percentagem de biodegradação obtidos através do método da perda de massa nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.	73
Tabela 13 - Características do inóculo utilizado nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia e valores recomendados pela ISO 15985:2014.	75
Tabela 14 - Quantidade de carbono no material teste colocado no frasco no início dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.	76
Tabela 15 - Quantidade de biogás libertado no frasco em branco e com os materiais em teste para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.	77
Tabela 16 - Duração da fase <i>lag</i> , fase de degradação e percentagem máxima de biodegradação para os três materiais, celulose, PHA e APIMAT, nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.	80
Tabela 17 - Massa do conteúdo dos frascos, teor de humidade, sólidos voláteis e sólidos secos totais no fim dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.	84

Tabela 18 - Quantidade de dióxido de carbono libertada no frasco em branco, com a celulose, PHA e APIMAT através do analisador de carbono.....	98
Tabela 19 - Percentagem de biodegradação da celulose, PHA e APIMAT.	100
Tabela 20 - Quantidade de dióxido de carbono libertada no frasco em branco, com a celulose, PHA e APIMAT através da titulação potenciométrica.	102
Tabela 21 – Volume de biogás libertado no frasco em branco, com celulose, PHA e APIMAT.....	104
Tabela 22 - Percentagem de biodegradação da celulose, PHA e APIMAT.	107

Lista de Siglas e Abreviaturas

ABS - Resina de estireno de acrilonitrilo butadieno, do inglês *Acrylonitrile butadiene styrene resin*

ASTM - Sociedade Americana de Teste de Materiais, do inglês *American Society for Testing Materials*

CEN - Comité Europeu para a Normalização

C_g - Carbono gasoso libertado dos frascos de digestão

CIS – Comunidade de Estados Independentes, do inglês *Commonwealth of Independent States*

DEHP - bis(2-etilhexil)ftalato do inglês *Bis(2-ethylhexyl)phthalate*

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*

EPS – Poliestireno Expandido, do inglês *Expanded polystyrene*

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

HD-PE - Polietileno de alta densidade, do inglês *High density polyethylene*

I&D – Investigação e desenvolvimento

I&DT – Investigação e desenvolvimento tecnológico

ISO – Organização Internacional para a Normalização, do inglês *International Organization for Standardization*

LD-PE - Polietileno de baixa densidade, do inglês *Low density polyethylene*

M – Metal

MODA - Analisador da Degradação Oxidativa Microbiana, do inglês *Microbial oxidative degradation analyzer*

MP – Microplásticos

NAFTA - Acordo de Comércio Livre Norte-Americano, do inglês *North American Free Trade Agreement*

NP - 4-nonilfenol

OP – Octilfenol

PA – Poliamidas

PBAT – Poli(butileno adipato co-tereftalato), do inglês *Polybutylene adipate co-terephthalate*

PBS – Succinato de polibutileno, do inglês *Polybutylene succinate*

PBT - Tereftalato de polibutileno, do inglês *Polybutylene terephthalate*

PC – Policarbonato

PDLA - Poli(D-láctido), do inglês *Poly(D-lactide)*

PDLLA - Poli(D,L-láctido), do inglês *Poly(D,L-lactide)*

PEF - Furanoato de polietileno, do inglês *Polyethylene furanoate*

PE-LLD - Polietileno de baixa densidade linear, do inglês *Polyethylene, linear low density*

PE-MD - Polietileno de densidade média, do inglês *Polyethylene, medium density*

PET - Polietileno de tereftalato

PGA – Ácido Poliglicólico, do inglês *Polyglycolic acid*

PHA – Polihidroxialcanoato

PHB – Polihidroxibutirato

PHBV - Polihidroxibutirato-co-hidroxicvalerato, do inglês *Polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate*

PLA – Ácido Polilático, do inglês *Poly(lactic acid)*

PLLA - Poli(L-láctido), do inglês *Poly(L-lactide)*

PMMA – Polimetilmetacrilato

PP – Polipropileno

PS – Poliestireno, do inglês *Polystyrene*

PTFE – Politetrafluoretileno

PTT – Politrimetileno de tereftalato

PUR – Poliuretano

PVC - Cloreto de polivinilo, do inglês *Polyvinyl chloride*

PVOH – Álcool Polivinílico, do inglês *Polyvinyl alcohol*

SAN – Copolímero de estireno-acrilonitrilo, do inglês *Styrene-acrylonitrile copolymer*

TPS – Amido termoplástico, do inglês *Thermoplastic starch*

TOC – Carbono orgânico total, do inglês *Total organic carbon*

ThCO₂ - quantidade teórica de dióxido de carbono que pode ser produzido pelo material em teste

Capítulo 1 - Introdução

1.1. Objetivo da tese

A presente dissertação de mestrado com o título “Avaliação da biodegradabilidade de cápsulas de café constituídas por polímeros biodegradáveis” foi desenvolvida na empresa CVR – Centro para a Valorização de Resíduos. Este trabalho teve como principal objetivo avaliar a biodegradabilidade dos biopolímeros polihidroxialcanoato (PHA) e ácido polilático (PLA) – nome comercial APIMAT, através da aplicação de duas metodologias normalizadas, uma em condições de compostagem, e outra em condições de digestão anaeróbia.

Na aplicação da norma ISO 14855:2012 – Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem – Método da análise de dióxido de carbono libertado, os métodos utilizados para a medição do dióxido de carbono libertado foram a titulação potenciométrica do dióxido de carbono dissolvido numa solução com hidróxido de bário utilizando ácido clorídrico como titulante e um analisador de carbono para a medição do carbono inorgânico. Foram também efetuadas outras análises especificadas na norma ISO 14855:2012 para caracterizar os materiais em teste e o inóculo como a análise elementar do carbono, hidrogénio e nitrogénio, os sólidos voláteis, sólidos secos totais e teor de humidade. Para além disso, foi também aplicada a norma ISO 15985:2014 - Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia de alto teor de sólidos – Método de análise do biogás libertado, avaliando a biodegradabilidade dos mesmos polímeros. Foi identificada a melhor metodologia para avaliar a biodegradabilidade dos biopolímeros em estudo, e o cumprimento dos requisitos de cada norma, de forma a validar a sua biodegradabilidade.

Esta dissertação está dividida em 6 capítulos. A introdução, é o primeiro capítulo onde é efetuado o enquadramento teórico, as explicações das técnicas e das normas ISO (Organização Internacional para a Normalização) utilizadas. De seguida, no capítulo 2, é apresentada a parte experimental, o procedimento utilizado para a aplicação de ambas as normas ISO bem como os equipamentos utilizados. No capítulo 3 são apresentados e discutidos os resultados obtidos de modo a avaliar se os materiais em teste são biodegradáveis. No capítulo 4 são efetuadas as conclusões do estudo. No capítulo 5 são apresentadas as referências bibliográficas em que se baseou esta dissertação. Por fim, no capítulo 6 é onde se encontram os anexos com os dados obtidos que permitem auxiliar a compreensão dos resultados obtidos.

1.2. Apresentação da empresa

Este trabalho foi desenvolvido na empresa CVR – Centro para a Valorização de Resíduos, na figura 1 é apresentada uma fotografia do seu edifício.

O CVR - Centro para a Valorização de Resíduos é uma instituição sem fins lucrativos, fundada em 2002, que presta serviços de investigação, análise científica e aplicação de soluções reais na área da valorização de resíduos. Está localizado em Guimarães, integrado no Campus da Universidade do Minho possuindo instalações laboratoriais próprias onde desenvolve as suas atividades. O CVR conta atualmente com 14 colaboradores permanentes, entre técnicos e investigadores, com formação ao nível da biologia, biotecnologia, tecnologia do ambiente, engenharia de materiais, química, biológica e mecânica, além de colaborações externas de cerca de duas dezenas de investigadores de universidades portuguesas. A Universidade do Minho, a TecMinho, a Associação Industrial do Minho e a Associação Portuguesa de Fundição são os seus associados constituintes, no entanto, o CVR conta com 80 associados fundadores e aderentes de diferentes tipologias, nomeadamente empresas da indústria da fundição, dos serviços de gestão de águas residuais e de gestão de resíduos, da indústria metalomecânica, da indústria cerâmica, da indústria do papel, da indústria da construção civil, centros tecnológicos, entidades municipais e instituições públicas sem fins lucrativos. Independentemente da área da atividade industrial, o CVR tem as competências necessárias para apoiar projetos e iniciativas relacionadas com uma ampla gama de resíduos industriais. As capacidades deste centro permitem-lhe intervir em diferentes aspetos dentro de um processo, nomeadamente em serviços de análises laboratoriais e prestação de serviços de consultoria especializada. O CVR tem ainda um papel importante como entidade prestadora de apoio técnico e científico a projetos de investigação e desenvolvimento (I&D), possuindo o *know-how* necessário para desenvolver soluções para o tratamento de resíduos, sustentáveis do ponto de vista ambiental e económico [1].

Este Centro desenvolveu em 15 anos de existência mais de uma centena de projetos de investigação e desenvolvimento tecnológico (I&DT) nacionais e internacionais. Na prática, os serviços analíticos e de investigação prestados dirigem-se a entidades coletivas. A utilidade e a competência da qualidade dos serviços laboratoriais e de consultoria assegurados pelo CVR comprovam-se pelos mais de 7500 certificados e boletins de análise emitidos pelo Centro, bem como pela existência de mais de 500 referências distintas de clientes.

Nas suas instalações de cerca de 2000 metros quadrados, além de serviços de análises laboratoriais e de consultoria, existe um Departamento de I&DT que promove e implementa projetos de

tratamento e valorização de resíduos. Na sua dependência funcionam laboratórios de tratamentos biológicos, hidrometalúrgicos, de incorporação em cerâmicos e de incorporação em materiais cimentícios. As áreas de investigação são as de incorporação de resíduos como materiais na construção civil, recuperação de metais e sais metálicos, processos de tratamento biológico de resíduos, processos de valorização energética de resíduos, recuperação de materiais a partir de subprodutos animais, produção de biocombustíveis.

O CVR – Centro para a Valorização de Resíduos é, desde 24 de novembro de 2017, Centro Interface, após a proposta da ANI – Agência Nacional de Inovação, apresentada ao Ministério da Economia, ter sido aceite e vertida no despacho n.º 10252/2017, publicado em Diário da República. Este reconhecimento ocorre no âmbito do Programa Interface que apresenta como uma das suas principais iniciativas a capacitação dos Centros Interface, entidades fundamentais do sistema nacional de inovação e agentes de valorização do conhecimento científico e tecnológico, potenciando a sua transferência para as empresas. Neste contexto, e no caso específico do CVR, apresentam especial relevância as subsequentes medidas: financiamento plurianual; projetos de inovação empresarial; modernização de equipamentos; internacionalização; eficiência energética; economia circular.

De acordo com o Despacho n.º 9181/2017, foi declarada a utilidade pública do CVR, nos termos do Decreto-Lei n.º 460/77, de 7 de novembro, com a redação dada pelo Decreto-Lei n.º 391/2017, de 13 de dezembro. Considera o referido Despacho que “o CVR é referenciado como uma entidade multissetorial, que vem desenvolvendo, desde a sua constituição, relevantes atividades científicas em matéria de gestão e valorização de resíduos, através da realização de projetos de investigação e desenvolvimento tecnológico, bem como na prestação de serviços especializados que se refletem positivamente na gestão ambiental das indústrias e serviços e, conseqüentemente, na proteção do ambiente”.

O CVR dispõe de uma vasta experiência no que diz respeito à elaboração e execução de projetos numa vertente de I&D e de mercado. O IDT - Departamento de Investigação e Desenvolvimento Tecnológico promove e implementa projetos de investigação e desenvolvimento, explorando potencialidades no desenvolvimento de metodologias inovadoras de valorização de resíduos e avaliando o seu potencial de transferibilidade. Para cada situação concreta, opções específicas de gestão de resíduos são avaliadas, do ponto de vista ambiental, técnico e económico, de forma a respeitar sempre o princípio de que os resíduos são recursos que importa não desperdiçar. A ampla difusão dos resultados obtidos, por intermédio da publicação de artigos científicos em revistas de arbitragem

nacional/internacional e a criação de espaços de debate de qualidade científica, no formato de workshops e/ou conferências, deverá possibilitar a transferência de conhecimento entre todos os potenciais utilizadores com responsabilidade empresarial e ambiental dos diversos setores de atividade [2] [3].



Figura 1 - Instalações do Centro para a Valorização de Resíduos.

1.3. Plástico

1.3.1. Composição e matérias-primas para a produção do plásticos

O termo *plástico* por si só indica um material que pode ser moldado. É um material constituído por polímeros orgânicos sintéticos ou semi-sintéticos [4]. Esses polímeros são formados através da repetição de uma unidade designada por monómero, dando assim origem a uma macromolécula com os monómeros unidos por ligações covalentes. Existem imensos tipos de plástico que podem ser agrupados em duas famílias de polímeros, os termoendurecíveis que depois de moldados nunca mais amolecem, isto é, apenas são formados uma vez e, os termoplásticos que amolecem com o calor e quando arrefecem endurecem novamente, são formados pela aplicação de calor e pressão continuamente [5] [6].

O plástico é produzido a partir de várias fontes naturais. Antes da Segunda Guerra Mundial os termoplásticos celulósicos eram produzidos a partir de fontes vegetais como a celulose. Até meados de 1950 a matéria-prima principal para a produção de plástico na Europa foi o carvão. A partir de uma destilação destrutiva do carvão eram produzidos quatro produtos: alcatrão de carvão, coque, gás de carvão e amoníaco. O alcatrão de carvão era a fonte de vários compostos químicos aromáticos, como o benzeno e tolueno, compostos estes que davam origem a outros produtos químicos possibilitando a produção de plásticos importantes como resinas fenólicas, poliestireno (PS) e nylons. A partir dos anos de 1950 e 1960 as fontes de matéria-prima vegetal e de carvão foram sendo substituídas por petróleo e atualmente a indústria do plástico está bastante envolvida com a indústria petrolífera, sendo este um fator determinante para o crescimento da indústria do plástico. Atualmente, o petróleo é a principal fonte para a indústria de polímeros e o produto mais importante, o etileno, é produzido a partir de fontes de hidrocarbonetos como o etano, propano, nafta, óleo de gás atmosférico e petróleo bruto. Através da figura 2 é possível observar os principais produtos poliméricos produzidos a partir do etileno e os subprodutos da sua produção, o propileno e o butadieno.

Os combustíveis fósseis têm uma duração limitada e, por isso, para a produção de etileno têm sido utilizadas matérias-primas como materiais celulósicos para a desidratação do etanol através de fermentação. Outros materiais que têm vindo a ser explorados são os que possibilitam a produção de bioplásticos, por exemplo, o amido, a partir de batata ou arroz, é utilizado para produzir embalagens biodegradáveis [7].

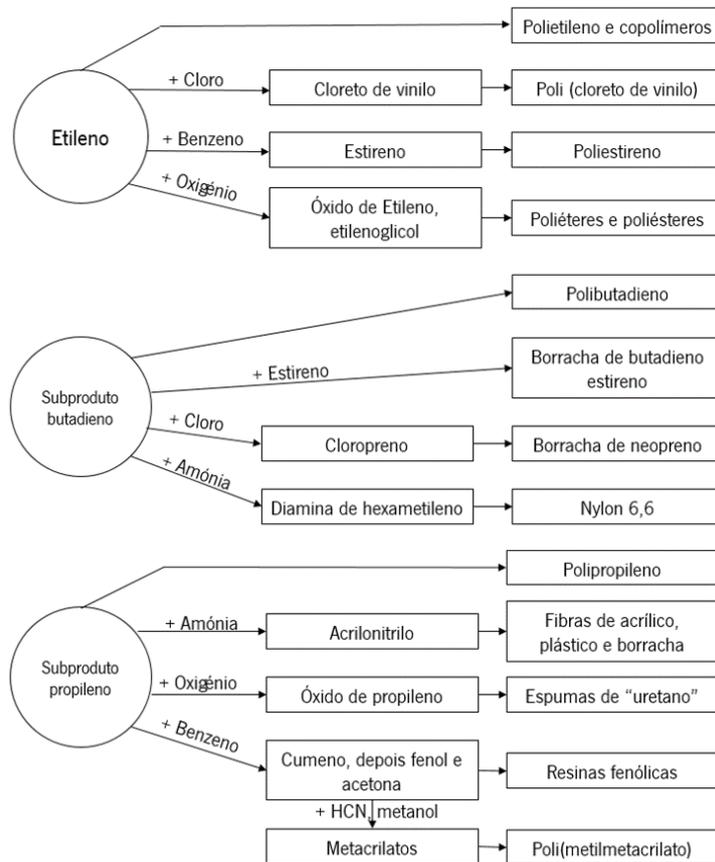


Figura 2 - Principais produtos poliméricos derivados do etileno e seus subprodutos propileno e butadieno. Nem todos os reagentes ou produtos são assinalados (Adaptada de [2]).

1.3.2. Consumo de plástico

Tal como referido anteriormente, o plástico é um material bastante polivalente podendo ser utilizado numa ampla gama de produtos, com várias formas e tipos. A sua constituição pode incluir polímeros naturais, polímeros naturais modificados, termoendurecíveis, termoplásticos e, mais recentemente, os plásticos biodegradáveis [8]. É um material de baixo custo, leve, resistente, com bastante durabilidade, resistente à corrosão e com grandes propriedades de isolamento térmico e elétrico [9].

Os tipos de plásticos mais utilizados são o polietileno de alta densidade (HD-PE), polietileno de baixa densidade (LD-PE), cloreto de polivinilo (PVC), poliestireno (PS), polipropileno (PP) e o polietileno de tereftalato (PET), que em conjunto resultam em aproximadamente 90% da produção total de plástico no mundo [4]. Na tabela 1 são identificadas a distribuição da exigência de plástico por tipos de resina e aplicações em 2018, na Europa. A análise à tabela 1, permite identificar que o PP (polipropileno) surge como o mais utilizado, logo seguido do PE-HD/PE-MD (Polietileno de alta densidade/Polietileno de

densidade média), PE-LD/PE-LLD (Polietileno de baixa densidade/Polietileno de baixa densidade linear) e PVC (Cloro de polivinilo) polímeros bastante utilizados nos plásticos básicos [10].

Tabela 1 - Distribuição da exigência de plástico por tipos de resina em 2018, dados para a Europa 28 países com a exceção da Noruega e Suíça (Adaptado de [10]).

Tipo de resina	Percentagem (%)	Aplicação
PP	19,3	Embalagens de alimentos, tampas articuladas, recipientes de micro-ondas, tubos, peças automóveis, notas bancárias, etc.
PE-LD / PE-LLD	17,5	Sacos e recipientes reutilizáveis, filmes agrícolas, filmes de embalagem de alimentos, etc.
PE-HD / PE-MD	12,2	Brinquedos, garrafas de leite, garrafas de champô, utensílios domésticos, etc.
PVC	10,0	Isolamento de janelas, revestimento do piso e parede, tubos, isolamento de cabos, mangueiras de jardim, piscinas insufláveis, etc.
PUR (Poliuretano)	7,9	Isolamento de construção, almofadas e colchões, espumas isolantes para frigoríficos, etc.
PET	7,7	Garrafas para água, refrigerantes, produtos de limpeza, etc.
PS/EPS (Poliestireno/Poliestireno expandido)	6,4	Embalagens de alimentos (laticínios, pesca), isolamento de prédios, equipamentos elétricos, revestimento interno para frigoríficos, armação de óculos, etc.
Outros	19,0	Jantes (ABS – Resina de estireno de acrilonitrilo butadieno); fibras ópticas (PBT - Tereftalato de polibutileno); lentes de óculos, telhas (PC - Policarbonato); ecrãs táteis (PMMA – Polimetilmetacrilato); revestimento de cabos em telecomunicações (PTFE - Politetrafluoretileno); e muitos outros em aeroespacial, implantes

		médicos, dispositivos cirúrgicos, membranas, válvulas e vedações, revestimentos protetores, etc.
--	--	--

Na figura 3 é possível observar a exigência de plástico por secções e por tipos de polímeros em 2018, num total de 51,2 milhões de toneladas. Desta figura é importante destacar que a indústria de embalagens é a que produz mais plástico (39,9%), com os polímeros PET, PP, PE-HD/PE-MD, PE-LD/PE-LLD em maior quantidade. Segundo Mikael Kedzierski e colaboradores [11] este facto deve-se à substituição de materiais como a cerâmica ou o vidro para uma melhor conservação de alimentos prevenindo infeções por parasitas ou facilitar o armazenamento e transporte de água de consumo. Logo, com o aumento da população mundial bem como a sua deslocação para áreas mais urbanas onde existe uma sociedade mais consumista, com maior acesso a bens e serviços de consumo torna o consumo destes materiais ainda mais elevado. Na indústria da construção é muito utilizado na tubagem e revestimento de paredes. As propriedades de isolamento e retardamento de chama são propriedades requeridas na indústria elétrica para isolamento de cabos e tomadas. Na indústria automóvel é bastante utilizado na construção de baterias, acessórios de luz e carros mais leves e com maior segurança. Nos barcos e aviões é bastante usado devido a ser bastante leve. No uso doméstico é possível encontrar plástico em cadeiras de exterior, gavetas, estantes e armários bem como em peças decorativas. No desporto tem sido utilizado PVC flexível na construção de estádios. Têm sido utilizados na produção de equipamentos de desporto que permitam uma melhor performance [7]. Na agricultura são usados na cobertura de estufas [12].

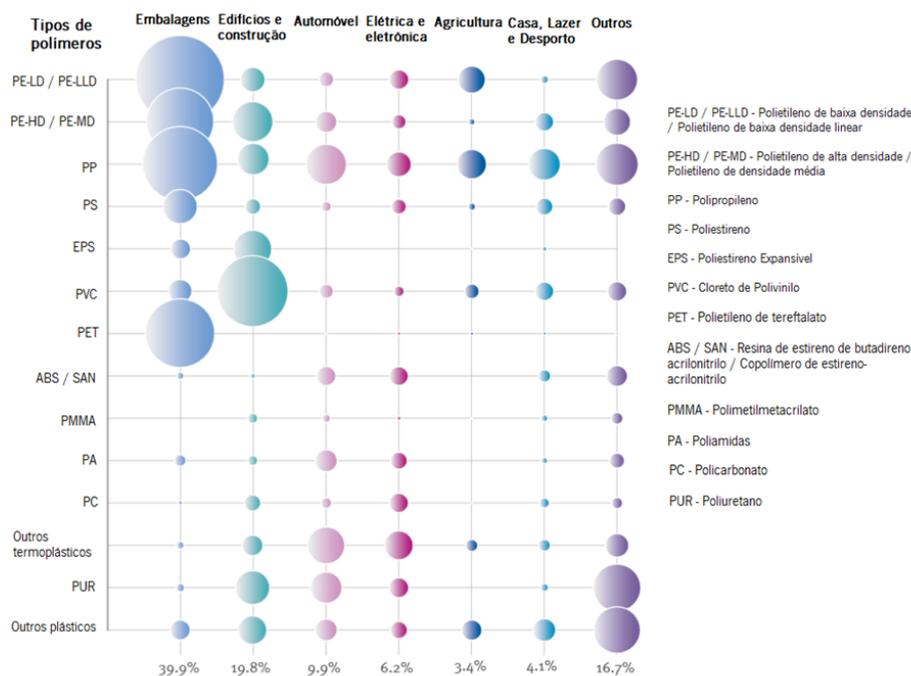


Figura 3 - Exigência de plástico por secções e por tipos de polímeros em 2018, dados para a Europa 28 países com a exceção da Noruega e Suíça (Adaptada de [7]).

Como pode ser verificado através da figura 4, a produção global de plástico desde 1950 tem tido sempre um crescimento verificando-se um abrandamento da produção por parte da Europa no qual a partir do ano de 2002 até 2012 o valor de produção se tem situado entre as 55 e 58 milhões de toneladas. No mundo o crescimento é mais acentuado situando-se nas 288 milhões de toneladas em 2012 [13].

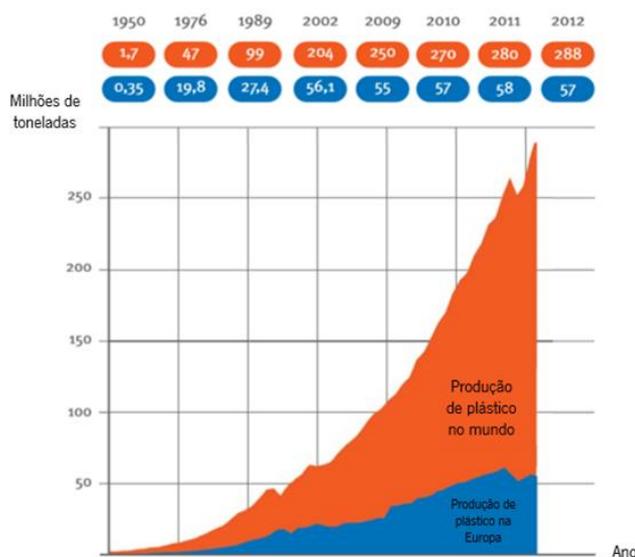


Figura 4 - Produção mundial de plástico entre 1950 e 2012, inclui termoplásticos, poliuretanos, termoendurecíveis, elastómeros, adesivos, revestimentos e vedantes e fibras de polipropileno. Não inclui fibras de poliacrílo, de polietileno de tereftalato, poliamidas (Adaptada de [10]).

Em 2018 foram produzidas 359 milhões de toneladas de plástico no mundo, sendo que a China foi responsável por 30% da produção, seguido da Acordo de Comércio Livre Norte-Americano (NAFTA) com 18% e a Europa com 17% e com uma percentagem mais baixa a Comunidade de Estados Independentes (CIS) com 3% conforme pode ser observado na figura 5.

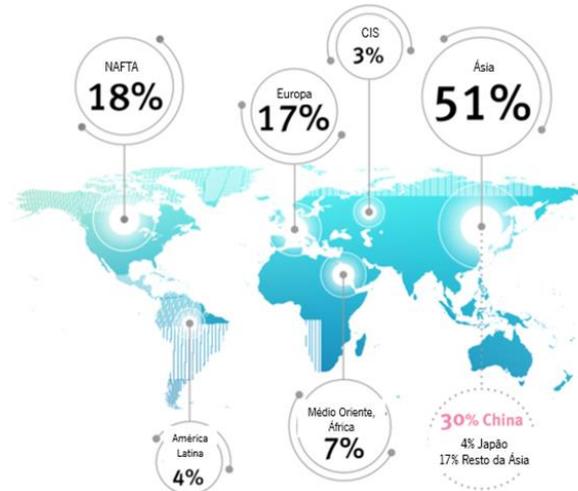


Figura 5 - Distribuição global da produção de plástico em 2018, Inclui termoplásticos, poliuretanos, termoendurecíveis, elastômeros, adesivos, revestimentos e vedantes e fibras de polipropileno. Não inclui fibras de poliácido, de polietileno de tereftalato, poliamidas (Adaptada de [7]).

Apesar da tendência crescente da produção de plástico existem vários problemas associados à sua gestão. A principal fonte de matéria-prima para a produção é finita, são adicionados aditivos (substâncias químicas) aos polímeros de modo a aumentar o desempenho do plástico, que podem ser prejudiciais para a saúde e meio ambiente. Por outro lado, o consumo de plástico pela sociedade está a gerar problemas de gestão de resíduos pois a nossa capacidade de descarga é finita, com aterros sanitários no limite de utilização. Para além disso, o plástico descartado contamina o ambiente terrestre e aquático, tendo sido evidenciado nos últimos anos uma grande preocupação relativamente aos microplásticos [9].

1.3.3. Aditivos

Os polímeros plásticos por si só raramente são utilizados, pois às resinas dos polímeros são adicionados aditivos de modo a melhorar o desempenho e propriedades físicas e químicas do material [8] [14]. Existem vários tipos de aditivos, a sua adição e quantidade dependem das propriedades finais desejadas para o produto final [15]. Sibel Ügdüler e colaboradores [14] dividem os aditivos em quatro categorias: aditivos funcionais, corantes, enchimentos e reforçadores. Destas categorias os aditivos funcionais são os mais importantes e estão divididos em diferentes classes:

- Antioxidantes, retardam a oxidação quando exposto à luz ultravioleta (UV), calor ou oxigênio atmosférico;
- Estabilizadores, melhoram as propriedades mecânicas e eliminam problemas causados pela degradação química, como a alteração de cor;
- Plastificantes, utilizados como lubrificantes diminuem a rigidez do polímero e aumentam a resistência do material final;
- Retardadores de chama, retardam ou inibem reações de ignição ou oxidação dos polímeros de modo a protegê-los de temperaturas elevadas;
- Lubrificantes, protegem contra danos térmicos e diminuem a cisão;
- Agentes anti estáticos, eliminam descargas electroestáticas;
- Agentes deslizantes, ajudam a diminuir as forças de atrito entre superfícies;
- Agentes de espuma, aumentam o isolamento térmico e sonoro;
- Biocidas, protegem o plástico contra a degradação microbiológica.

Os aditivos mais utilizados são os plastificantes, retardadores de chama, estabilizadores, antioxidantes e corantes. Na tabela 2 estão presentes os polímeros que são mais produzidos bem como os aditivos que são utilizados, e como já foi referido anteriormente, podem ser utilizadas diferentes quantidades de aditivo mediante o objetivo final [16].

Tabela 2 - Lista dos polímeros mais comuns produzidos e os aditivos associados. (Adaptado de [16]).

Polímero	Consumo na Europa 27 países (em milhões de toneladas) em 2015	Tipo de aditivo	Quantidade nos polímeros (% m/m)	Substâncias perigosas
PP	9	Antioxidante	0,05-3	Bisfenol A: Octilfenol, nonilfenol
		Retardador de chama (isolamento de cabos e aplicações eletrónicas)	12-18	Retardadores de chama bromado, ácido bórico, tris(2-cloroetil) fosfato

HD-PE	8	Antioxidante	0,05-3	Bisfenol A: Octilfenol, nonilfenol
		Retardador de chama (isolamento de cabos e aplicações eletrónicas)	12-18	Retardadores de chama bromado, ácido bórico, tris(2-cloroetil) fosfato
LD-PE	6	Antioxidante	0,05-3	Bisfenol A: Octilfenol, nonilfenol
		Retardador de chama (isolamento de cabos e aplicações eletrónicas)	12-18	Retardadores de chama bromado, ácido bórico, tris(2-cloroetil) fosfato
PVC	5	Plastificante	10-70	Ftalato
		Estabilizador	0,5-3	Bisfenol A: Nonilfenol
PUR	3,5	Retardador de chama	12-18	Retardadores de chama bromado, ácido bórico, tris(2-cloroetil) fosfato

A ligação entre o polímero e o aditivo é fraca, e em condições térmicas, ácidas ou básicas pode ser quebrada levando a que os aditivos possam ser transferidos para o meio envolvente, como comida, líquidos, ambiente [17] [15]. Como pode ser visto, a poluição ambiental não é apenas causada pelo material plástico em si. De facto, os aditivos são substâncias potencialmente tóxicas. Alguns retardadores de chama bromado podem causar efeitos neurotóxicos e alterar as funções da hormona tiroide. O bisfenol A é tóxico e causa desregulações hormonais em humanos, os ftalatos são tóxicos numa grande variedade de microorganismos aquáticos. A exposição aos aditivos pode ocorrer através da ingestão de comida contaminada, inalação ou absorção na pele [14] [17]. Gabino Bolívar-Subirats e colaboradores [18] estudaram a presença e o impacto de aditivos ao longo da bacia do rio Besos (Catalunha, Espanha). Este rio flui numa zona bastante industrializada e urbanizada com bastantes plásticos flutuantes e descargas de mais de 25 estações de tratamento de água residuais (ETAR). Foram analisados vários compostos

entre eles ftalatos e bisfenol. As amostras foram recolhidas em diferentes alturas do ano e em todas as amostras foram detetados aditivos, sendo que, na altura do ano que havia mais descarga de efluentes e aumentava a densidade populacional, também se verificava um aumento das substâncias químicas. Foram realizados também estudos de toxicidade com *Daphnia magna* (organismo modelo) de modo a avaliar a toxicidade aquática e verificou-se que o bis(2-etilhexil) ftalato (DEHP), o octilfenol (OP) e o 4-nonilfenol (NP) estavam presentes em concentrações elevadas capazes de provocar efeitos adversos. Posto isto, é necessária uma monitorização contínua de modo a evitar efeitos no meio ambiente, particularmente a longo termo. Num estudo efetuado por Kosuke Tanaka e colaboradores [19] foram analisados 141 fragmentos recolhidos da praia de Kauai (Havai) situada no Pacífico Norte onde estão concentrados plásticos marinhos e que se conhece por esta ser sujeita à poluição de plásticos. O objetivo deste estudo era quantificar os compostos químicos retidos nos plásticos recolhidos, fornecer dados sobre a poluição química dos aditivos e o risco para os organismos marinhos. Foi possível concluir que os aditivos presentes em fragmentos mais pequenos tinham quantidades comparáveis às dos produtos originais, logo estes podem ser conservados mesmo em fragmentos de plástico marinho. Isto evidencia a sua importância como vetor de exposição dos organismos aos aditivos no ambiente marinho.

1.3.4. Macroplásticos e microplásticos

Os macroplásticos são geralmente definidos por terem um tamanho superior a 25 milímetros, são partículas maiores e têm sido encontrados em ambientes marinhos desde os primeiros dias da sua produção [4]. Os microplásticos (MP) são partículas de tamanho mais pequeno, com dimensões inferiores a 5 milímetros e são reconhecidos como um importante poluidor ambiental presente na atmosfera, solo e água. Foram recentemente distinguidos no top 10 de problemas ambientais pelo Programa das Nações Unidas para o Ambiente [20]. Os MP podem ainda ser divididos em duas categorias os primários, nos quais são produzidos intencionalmente num tamanho mais pequeno (por exemplo, microesferas em esfoliantes cosméticos) ou secundários que são o resultado da degradação de macroplásticos devido a condições ambientais. As fontes de MP podem ser terrestres ou marinhas, mas o vento ou correntes de água podem-nos transportar da terra para os cursos de água (rios, mares e oceanos). Em termos de fontes terrestres de MP temos:

- Microfibras do processo de lavagem da indústria têxtil - as microfibras têm origem nos processos de lavagem domésticos e industriais onde estudos demonstraram que 35% dos MP's identificados no ambiente aquático são provenientes de esgotos têxteis;

- Microesferas provenientes de cosméticos e produtos de higiene pessoal - as microesferas de plástico adicionadas aos produtos cosméticos são diretamente libertadas nos esgotos domésticos e escapam ao tratamento de águas residuais;
- Borracha de pneus, relva artificial e tintas rodoviárias - os pneus libertam uma grande quantidade de detritos de nanómetros a micrómetros de tamanho;
- MP provenientes de filmes plásticos da agricultura - devido a ser um plástico muito fino formam-se fragmentos de pequena dimensão devido à radiação ultravioleta;
- Existem ainda outras fontes como aterros, lixo, embalagens - os aterros armazenam 21-42% da produção global de resíduos e microplásticos foram detetados na água de lixiviação quer de aterros ativos como inativados [12];

Em termos de fontes marinhas, existem contentores perdidos no mar, pesca comercial, aquicultura e pesca recreativa, que resultam na libertação de pedaços de corda, aglomerados de linha de pesca de nylon e boias [21].

O impacto dos MP no solo, resulta na alteração da sua estrutura, reduz a infiltração da água da chuva e irrigação e afeta a capacidade de retenção de água no solo. Alteram as suas propriedades físicas e químicas no qual resulta num uso insustentável do terreno agrícola e danos ambientais. Na agricultura as plantas absorvem nanopartículas fazendo com que os MP entrem na cadeia alimentar [20].

Relativamente ao ambiente marinho, a distribuição dos detritos de plástico depende de vários mecanismos, como por exemplo ventos, correntes, geografia costeira, zonas urbanas. De realçar que foram encontrados mais MP nas zonas costeiras do que em alto mar pois a maior fonte de MP são atividades antropogénicas. Para além de se poder encontrar plástico a flutuar no mar, existem partículas que afundam atingindo maiores profundidades. Foi demonstrado num estudo que o desenvolvimento de biofilmes para sacos de plástico podem aumentar de densidade devido à atividade microbiana e afundar. Nas praias e zonas costeiras são encontradas grandes quantidades de MP sendo que uma das maiores abundâncias foi encontrado em Hong Kong onde 92% dos MP foi poliestireno que pode ser atribuído à densidade populacional e ao seu modo de vida na utilização de plástico descartável no transporte de comida. Nos organismos marinhos pode ocorrer a ingestão de plástico, em diferentes zonas do planeta foram encontrados detritos em várias espécies marinhas como tartarugas e crustáceos, provocando um bloqueio do trato intestinal, inibição das enzimas gástricas, atraso na ovulação e falha na reprodução. O estrangulamento é outra consequência e foi demonstrado que consegue ocorrer com maior frequência do que a ingestão. O estrangulamento pode provocar a sufocamento, cortes e uma maior probabilidade de serem apanhados por predadores. Estudos demonstram que espécies mais novas têm mais tendência

a estrangularem-se devido à sua curiosidade. As substâncias químicas são outro problema devido à sua ingestão por parte dos organismos marinhos [4].

Em termos de saúde humana, o corpo pode ser exposto a MP através da ingestão de comida, inalação de MP presentes no ar e por contacto com a pele por têxteis por exemplo, sendo a ingestão considerada a principal causa. Os MP podem aumentar o risco de cancro, doenças auto-imunes, doenças neurodegenerativas, sendo ainda de realçar que o conhecimento e os efeitos da exposição aos MP é limitada sendo requeridos mais estudos para uma maior compreensão do risco para a saúde [22].

1.3.5. Gestão dos resíduos e futuro do plástico

Como foi referido anteriormente o plástico tem inúmeras aplicações e é um material de elevada longevidade, mas isso conduz a uma grande preocupação a nível ambiental quando estes materiais são depositados, gerando um grande desafio a nível da gestão de resíduos [7]. Entre 1950 e 2015 a soma total da gestão de resíduos plásticos primários e secundários (reciclados) foi de 6300 milhões de toneladas, destes, aproximadamente 800 milhões de toneladas (12%) de plásticos foram incinerados, 600 milhões de toneladas (9%) foram reciclados e apenas 10% foram reciclados mais de uma vez. Cerca de 4900 milhões de toneladas de todos os plásticos alguma vez produzidos foram descartados e estão acumulados em aterros ou no ambiente [23].

Existem diversas opções para a gestão destes resíduos. Ao longo das últimas décadas, a opção mais utilizada, foi a deposição em aterros. Porém, esta é uma opção que ocupa uma grande área de terreno, gera odores, pode levar à libertação de materiais químicos perigosos e normalmente conduzem à perda irreversível dos recursos da terra não sendo, portanto, uma solução sustentável. A incineração também é uma alternativa, que possibilita a recuperação de alguns conteúdos energéticos do plástico, mas pode resultar na libertação de partículas nocivas, aumentar a emissão com gases de efeito de estufa e não resulta numa diminuição da utilização da matéria-prima não renovável. Do ponto de vista ambiental, a melhor opção para a gestão dos resíduos contendo plástico é a de reduzir, reciclar e reutilizar. Reduzir a quantidade de recursos da terra que são utilizados, incluindo energia usada na produção dos polímeros e redução da quantidade de água utilizada. Reutilizar materiais plásticos como os cestos ou caixas em indústrias transportadoras ou sacos de plástico em uso doméstico. A reciclagem apresenta elevado potencial económico e ambiental. Isto faz com que tanto a indústria como a sociedade olhem para os materiais em fim de vida como matéria-prima em vez de resíduos, porém o plástico

reciclado não é muito utilizado nas embalagens de comida (um dos maiores mercados para o plástico) devido a condições de higiene [7] [9] [24].

É necessário assegurar a sustentabilidade, garantir as necessidades do presente sem comprometer as gerações futuras de satisfazer as suas próprias necessidades. Uma das alternativas tem sido o desenvolvimento de bio-polímeros, polímeros biodegradáveis que podem ser uma alternativa ao plástico proveniente de matérias-primas não renováveis como o petróleo, visto que, alguns são produzidos a partir de matérias-primas renováveis [7] [9].

1.4. Bioplásticos

Um material plástico para ser considerado um bioplástico tem de ser biodegradável, proveniente de fontes renováveis, ou ambas as características. Ou seja, um material pode ser biodegradável, mas proveniente de uma fonte não renovável (combustíveis fósseis) [25]. Posto isto, os polímeros podem agrupados em 4 diferentes grupos:

- Polímeros não-biodegradáveis provenientes de combustíveis fósseis (exemplo: poliestireno e cloreto de polivinilo);
- Polímeros biodegradáveis provenientes de combustíveis fósseis (exemplo: álcool polivinílico e polietileno de adipato);
- Polímeros biodegradáveis provenientes de fontes renováveis (exemplo: amido e celulose);
- Polímeros não biodegradáveis provenientes de fontes renováveis (exemplo: poliamidas e poliuretanos).

Tal como o plástico os bioplásticos podem ser classificados em termoplásticos e termoendurecíveis [26] [27].

Existem ainda vários métodos para a produção de bioplásticos que podem ser divididos em cinco grupos mediante a matéria-prima de origem [28]:

- Extraídos diretamente da biomassa (exemplo: amido e celulose);
- Produzidos a partir de organismos naturais ou geneticamente modificados (exemplo: PHA);
- Sintetizados quimicamente a partir de monómeros de fonte renovável (exemplo: PLA e PGA [ácido poliglicólico]);
- Sintetizados a partir de petroquímicos (exemplo: PVOH [álcool polivinílico]);
- Produzidos através da combinação de tecnologias e polímeros (exemplo: misturas de gelatina-amido).

Em termos de produção mundial, em 2019 foram produzidas 2,11 milhões de toneladas de bioplásticos. A Europa lidera em termos de investigação e desenvolvimento de atividades relacionadas com o bioplástico, porém é na Ásia que reside uma maior capacidade de produção mundial, cerca de 45%, seguida da Europa (25%), América do Norte (18%) e América do Sul (12%). Na figura 6, é possível observar a produção global de bioplástico por tipo de material, onde os bioplásticos biodegradáveis (incluindo o PHA, PLA e misturas de amido) resultaram em 55,5% de todos os bioplásticos produzidos.

O PEF (Furanoato de polietileno) apresenta uma percentagem de 0% pois é um polímero novo e prevê-se a sua entrada no mercado em 2023 [29].

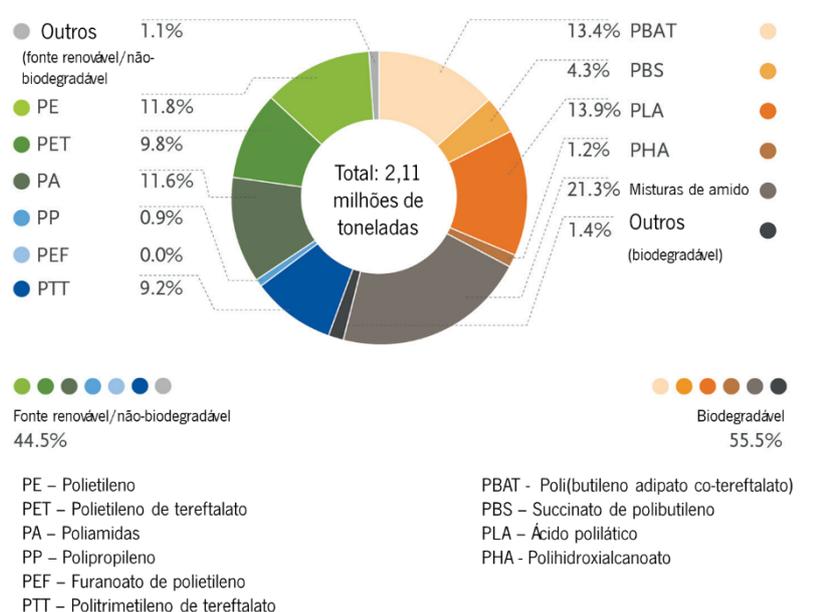


Figura 6 - Distribuição global da produção de bioplástico em 2019, por tipo de material (Adaptada de [26]).

Em 2024 prevê-se que a produção de bioplásticos atinja as 2,43 milhões de toneladas grande parte devido à enorme taxa de crescimento de PHA's que irão ser abordados no ponto a seguir [29]. Em 2019, uma grande quantidade de bioplásticos foi utilizada em embalagens, cerca de 1,14 milhões de toneladas no total, cerca de 54% como pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3 - Produção global de bioplásticos em 2019 por área de aplicação (Adaptado de [29]).

Aplicação	Quantidade de bioplásticos produzidos (em milhões de toneladas)	Quantidade de bioplásticos produzidos em percentagem (%)
Embalagens flexíveis	663	31,4
Embalagens rígidas	476	22,6
Têxteis	237	11,2
Bens de consumo	166	7,9
Agricultura e horticultura	161	7,6
Automóvel e transportes	141,5	6,7
Revestimentos e adesivos	124,5	5,9
Edifícios e construção	80	3,7

Elétrica e eletrônicos	40	1,9
Outras	25	1,1

Esta grande utilização de bioplásticos em embalagens pode ser devida a vários fatores como o alerta social para o impacto dos resíduos e embalagens nas alterações climáticas e, eliminação final destas embalagens de forma ecológica e de maneira sustentável. Uma forma de grandes fabricantes melhorarem as suas marcas é apelando ao consumidor a compra de materiais que reduzam a pegada de carbono. Melhoram também a agroeconomia aumentando a utilização de composto para melhorar as propriedades do solo (aumentar a retenção de carbono, melhorar a retenção de água e nutrientes, reduzir a necessidade da utilização de químicos adicionais).

Na gestão dos resíduos dos bioplásticos, é possível a utilização das opções mais convencionais como a reciclagem, inceneração ou aterros. Porém, uma grande vantagem dos bioplásticos é a sua biodegradabilidade, podendo ser utilizada a compostagem gerando um composto rico em carbono e nutrientes para o solo ou, metano para energia [30]. Com isto é possível uma economia circular onde os recursos são utilizados o mais possível, onde o valor máximo do uso do produto é obtido e no fim da sua utilização este ainda pode ser recuperado ou regenerado como pode ser observado na figura 7 [28].

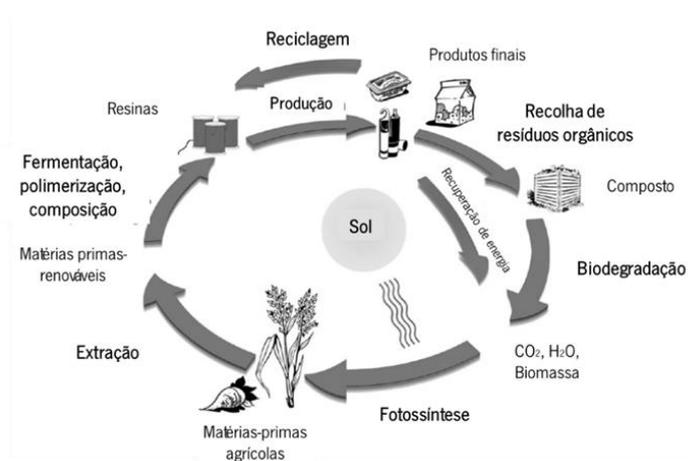


Figura 7 - Ciclo de vida dos bioplásticos (Adaptada de [27]).

Os bioplásticos apresentam-se assim como uma alternativa aos plásticos convencionais. Têm propriedades similares (em termos de características térmicas e mecânicas), são sustentáveis, reduzem a pegada de carbono, são em grande parte baseados em matéria-prima renovável e reduzem o risco de poluição marinha e para a saúde humana [27].

1.4.1. Polihidroxialcanoato

Os polihidroxialcanoatos (PHA's) são poliésteres alifáticos com carbono, hidrogénio e oxigénio na sua estrutura. A composição da cadeia lateral (R) e o número de unidades repetidas determinam a identidade da unidade monomérica. Existe assim uma grande quantidade de combinações possíveis devido à grande variedade de radicais (R) e ao arranjo e repetição do número de monómeros (n), como pode ser observado na figura 8. Por exemplo, se R for substituído por hidrogénio e n igual a um resulta em poli(3-hidroxipropionato) ou se o R for substituído por um grupo metilo e n for igual a três dá origem a poli(5-hidroxihexanoato) [31] [32].

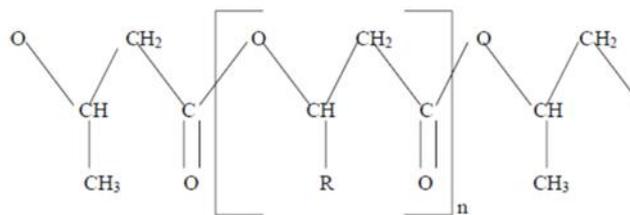


Figura 8 - Estrutura do PHA (Adaptada de [28]).

Com base na sua estrutura os PHA's podem ser divididos em três grupos [33]:

- PHA's de cadeia curta, compostos por 3 a 5 átomos de carbono;
- PHA's de cadeia média, compostos por 6 a 14 átomos de carbono;
- PHA's de cadeia longa, compostos por mais de 14 átomos de carbono.

Estes três grupos apresentam diferentes propriedades. Por exemplo, os PHA's de cadeia curta têm propriedades termoplásticas, são mais rígidos e quebradiços com alto grau de cristalinidade (60%-80%), enquanto os de cadeia média possuem características mais elásticas, com baixa cristalinidade (25%) e temperatura de fusão baixa. O polihidroxibutirato (PHB) é o mais conhecido e o PHA mais estudado [32].

Os PHA's são produzidos a partir de várias culturas de bactérias, e podem ser classificados de acordo com o mecanismo de acumulação de PHA. Um grupo de microrganismos tem por base a utilização limitada de nutrientes e fontes de carbono em excesso. O outro grupo de microrganismos tem por base um crescimento exponencial sem limitação de nutrientes [34]. Existe um grande número de bactérias capazes de produzir PHA, mas apenas um número restrito é utilizado industrialmente. A cultura mais utilizada é a *Cupriavidus necator*. Estas culturas podem ser utilizadas sem qualquer modificação, ou podem ser utilizadas culturas mistas com estirpes de bactérias geneticamente recombinadas [28]. Posto isto, o processo de acumulação ocorre segundo várias etapas, nas quais, a preparação do substrato, a acumulação do PHA, fermentação e extração do PHA [34]. Este processo começa com a adaptação e

reativação das bactérias induzidas em crescimento através da cultura num meio sem limitação de nutrientes. De seguida são transferidas para uma cultura com um volume maior e composição similar à anterior de modo a ocorrer o primeiro passo do processo de fermentação. Nesse primeiro passo, é assegurado a existência de macronutrientes e fontes de fosfato de potássio e fosfato de cálcio, não ocorrendo a acumulação de PHA. Numa segunda fase é induzida a produção de PHA limitando os nutrientes necessários para o crescimento das células e fornecendo um meio rico em carbono. Várias fontes de carbono podem ser utilizadas, polissacarídeos (glucose ou lactose, por exemplo), triglicerídeos (ácidos gordos, glicerol), hidrocarbonetos como o metano. Nesta fase pode haver um crescimento da célula em 80%. No fim da produção de PHA são efetuados processos de extração e purificação com solventes e produtos químicos [32]. Na figura 9 são apresentados os passos deste processo esquematicamente.

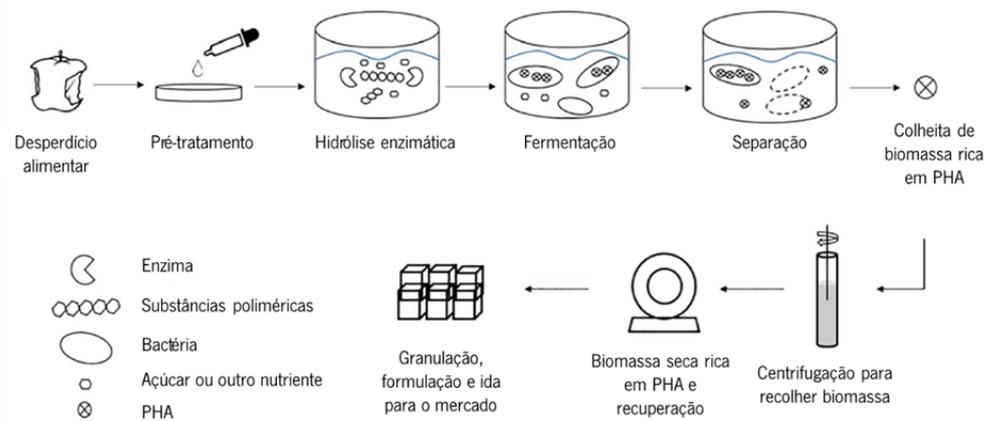


Figura 9 - Esquema de formação de PHA (Adaptada de [31]).

Mediante o processo de produção de PHA, para uma melhor competitividade de mercado têm vindo a ser desenvolvidas novas estirpes de bactérias que permitam obter maiores concentrações celulares, ou a utilização de substratos de baixo custo. Em laboratório têm vindo a ser explorados vários substratos como fluxos de resíduos de bio-refinarias e hidrocarbonetos provenientes de resíduos plásticos [32].

Nos próximos cinco anos prevê-se que a capacidade de produção de PHA quadruplique. Tem propriedades diferenciadoras como barreira de oxigênio, melhor barreira de vapor de água e de odores. Mediante a composição do monômero podem variar de propriedades rígidas a quebradiças, borrachas ou adesivos. Em comparação com o polipropileno, possui propriedades físico-químicas superiores, sendo promovida a sua utilização em várias áreas incluindo embalagens de comida [34]. Bucci e colaboradores [35] desenvolveram vários ensaios onde demonstram que o PHB, integrante do grupo dos polihidroxicarboxilatos, pode substituir o plástico em embalagens de margarina ou maionese. Muizniece-Brasava e colaboradores [36] determinaram que o PHB podia substituir o plástico nas embalagens de *sour cream* não afetando o seu armazenamento. Devido ainda à sua biocompatibilidade o PHA tem aplicações médicas podendo funcionar na forma de nanopartículas para a atuação específica de medicamentos. De realçar ainda que o PHA é biodegradável podendo ser bio degradado após a exposição ao solo, compostagem e ou sedimentos marinhos sem formar substâncias tóxicas contribuindo para uma economia sustentável [31] [32]. Na figura 10 é possível observar o ciclo de produção e biodegradação de PHA's. As plantas fazem fotossíntese utilizando dióxido de carbono, sol e água para produzir carboidratos. Esses carboidratos são utilizados como substratos nos processos de produção de PHA's que são posteriormente manufacturados em bioplásticos. Depois de utilizados, os bioplásticos são depositados em ambientes com atividade microbiana. A sua biodegradação vai dar origem a dióxido de carbono e água, substratos utilizados no início deste ciclo. Com isto, após a sua eliminação estes materiais podem ainda ser recuperados ou transformados como composto de qualidade para a agricultura [32].

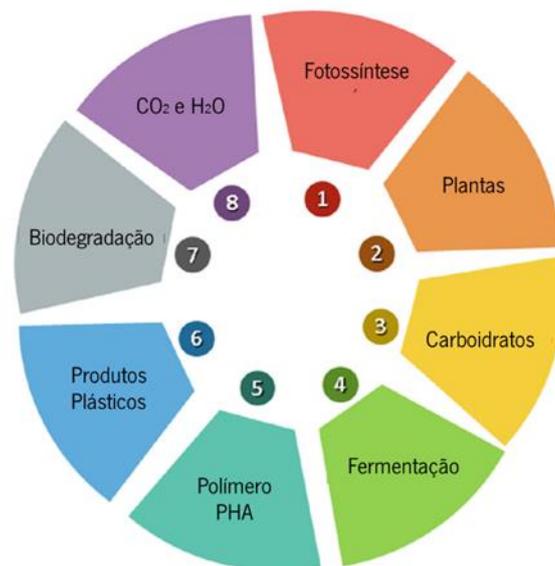


Figura 10 - Ciclo de produção e biodegradação do PHA (Adaptada de [29]).

1.4.2. Ácido Polilático

O ácido polilático (PLA) pertence à família dos poliésteres alifáticos e tem como unidade monomérica básica o ácido láctico [25]. Este monômero tem duas formas estereo-isométricas, figura 11, onde L(+)-ácido láctico e D(-)-ácido láctico são imagens no espelho um do outro com propriedades químicas e físicas idênticas. Estes apenas diferem na rotação do plano de luz polarizada, isto é, têm rotações em direções opostas podendo reagir de maneira diferente com outros reagentes quirais (maioria das enzimas nos sistemas biológicos) [37] [38].

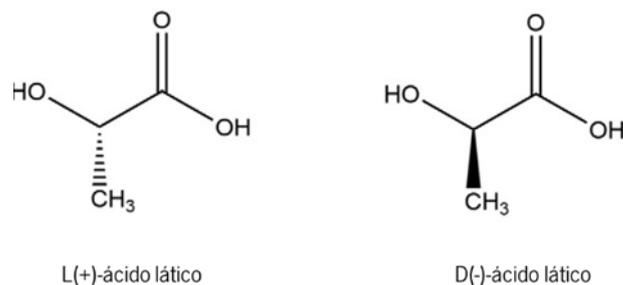


Figura 11 - Estrutura química do L(+) e D(-)-ácido láctico (Adaptada de [35]).

Ao existirem estas estruturas estereo-isoméricas são produzidos vários tipos de PLA e copolímeros de PLA. Podem assim serem formadas três estruturas de PLA, poli(L-láctido) (PLLA), poli(D-láctido) (PDLA) e poli(D,L-láctido) (PDLLA). A razão da combinação das estruturas estereo-isoméricas e a sua sequência tem influência nas propriedades mecânicas, térmicas e cristalinidade do PLA. Se nessa razão aumentar a concentração de D(-)-ácido láctico são produzidos polímeros de PLA de elevado custo mas com uma estrutura mais cristalina e filmes com uma melhor estabilidade térmica, mecânica e melhores propriedades de barreira [39]. Porém a indústria do PLA normalmente requer 96-99% de L(+)-ácido láctico e apenas 1-4% de D(-)-ácido láctico pois este último causa problemas metabólicos indesejáveis na indústria farmacêutica ou alimentar [37].

Para produzir PLA existem dois métodos. A fermentação com bactérias através de carboidratos como o amido ou, através da síntese química como a poli-condensação do ácido láctico ou por uma reação de abertura do anel do lactideo (dímero cíclico do ácido láctico), figura 12.

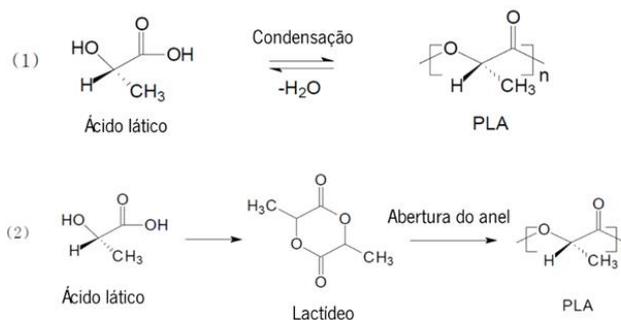


Figura 12 - Processos de produção de PLA (1) Poli-condensação do ácido láctico (2) Reação da abertura do anel do lactideo (Adaptada de [34]).

A fermentação é o processo preferido industrialmente pelos dois maiores produtores de PLA. A síntese química tem muitas limitações como por exemplo a capacidade limitada de produção, elevados custos e incapacidade de produzir o isômero mais desejado, o L(+)-ácido láctico [38]. No processo de fermentação as bactérias contêm a enzima lactato desidrogenase capaz de converter o ácido pirúvico a ácido láctico. Este método é capaz de produzir L(+)-ácido láctico ou D(-)-ácido láctico com bastante pureza dependendo do tipo de bactéria e da especificidade da enzima lactato desidrogenase. Para este processo é necessária uma estirpe de bactérias de crescimento rápido, que requeiram um baixo pH, tenham um alto rendimento e necessitem de nutrientes de baixo custo. Após a etapa de fermentação é necessária ainda outra etapa para purificar e recuperar o ácido láctico [37]. De modo a processar o PLA o modo de derretimento é o mais utilizado industrialmente permitindo moldar o polímero na forma desejada [38].

Sendo um termoplástico tem propriedades semelhantes aos plásticos mais comuns como o PET e PS. O PLA possui várias aplicações, médicas (implantes, como o PLA se degrada com o tempo e não é necessária uma posterior remoção do implante), fibras e têxteis (o polímero tem propriedades polares, logo como consegue absorver misturas, pode ser constituinte de toalhetas) [38]. Outro grande campo de aplicação é nas embalagens, onde o PLA possui bastantes características benéficas, boa transparência, adesão à superfície; elevada rigidez (melhor do que o PET e PS); temperaturas de processamento mais baixas com poupança de energia, bom isolante de calor; boa resistência a gorduras e óleos; boa torção para embrulhar rebuçados, por exemplo; boa permeabilidade para respiração e humidade de vegetais, fruta e pão; segurança no contacto alimentar [37]. Um exemplo de uma grande empresa a utilizar PLA nas suas embalagens é a Danone, que lançou no mercado alemão copos de iogurte feitos de PLA que representou 80% do volume total da sua linha de produtos Activia. Com esta medida melhorou a pegada de carbono em 25% e foram utilizados menos 43% de resíduos fósseis do que as embalagens originais [38].

Sendo um bioplástico, o PLA é biodegradável podendo ser um resíduo tratado tanto por reciclagem, método mais convencional ou por compostagem. A biodegradação do PLA e outros polímeros normalmente ocorre em duas fases, tal como se vê na figura 13. Numa primeira etapa ocorre a degradação para formar cadeias poliméricas mais pequenas através de hidrólise ou reações oxidativas. De seguida microrganismos assimilam essas cadeias mais pequenas formando dióxido de carbono, água e biomassa [38] [40].

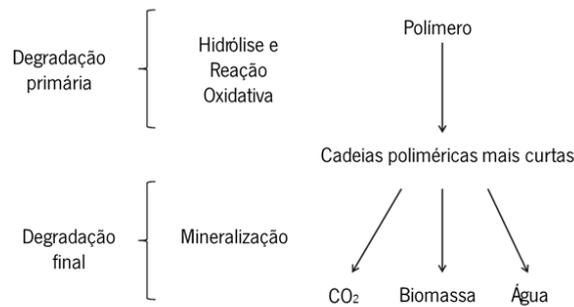


Figura 13 - Esquema do mecanismo de biodegradação de polímeros (Adaptada de [37]).

1.5. Métodos de avaliação da biodegradabilidade

Plásticos biodegradáveis são materiais poliméricos capazes de serem degradados por decomposição em dióxido de carbono, metano, água, compostos inorgânicos ou biomassa, no qual o mecanismo principal de decomposição é feito por ação enzimática de microrganismos [41]. A biodegradação tem por base duas fases, fragmentação, onde ocorre o encurtamento e enfraquecimento das cadeias poliméricas sob a influencia de calor, humidade, luz solar e/ou enzimas. De seguida ocorre a mineralização e assimilação dos fragmentos de plástico pela população microbiana no ambiente de eliminação, como pode ser observado na figura 14 [42].

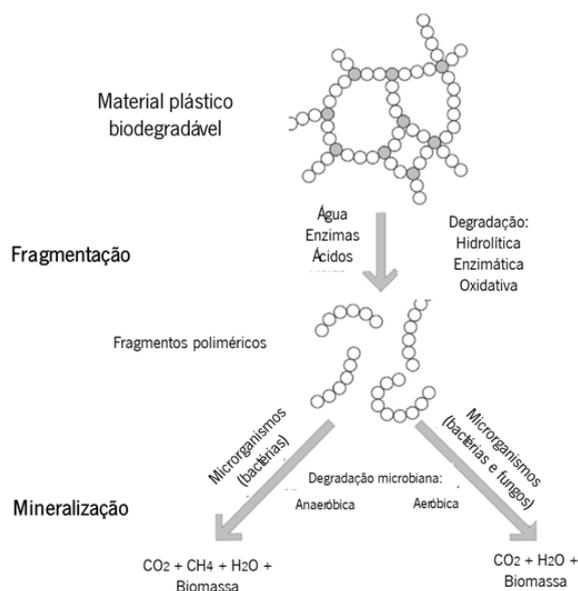


Figura 14 - Esquema das fases de biodegradação (Adaptada de [39]).

Para o material ser considerado biodegradável tem de ser completamente bio-degradado (ocorrer tanto a fragmentação como a mineralização), de modo a não apresentar risco para o ambiente. Porém as taxas de degradação podem não chegar a 100% pois uma pequena porção do polímero é incorporado como biomassa microbiana, húmus ou outros produtos naturais [43]. A biodegradabilidade depende ainda da matéria-prima, composição química, estrutura do produto final e das condições do local de biodegradação (temperatura, por exemplo) [42].

Em termos de gestão de resíduos para além dos métodos mais convencionais, devido à biodegradabilidade, existem tratamentos biológicos. Exemplo disso são a compostagem, digestão anaeróbia ou biodegradação em terreno agrícola, como se pode observar na figura 15. A compostagem é a solução mais predominante para a maioria dos plásticos biodegradáveis. O tratamento com o ambiente mais agressivo é o da compostagem, seguido do tratamento em solo, água, água marinha e por fim, os aterros. Isto deve-se a duas razões principais, a temperatura e presença de microrganismos (fungos e bactérias). Este segundo fator é importante devido à presença de fungos que degradam os bioplásticos mais difíceis de degradar e estes apenas têm atividade no composto ou no solo [42].

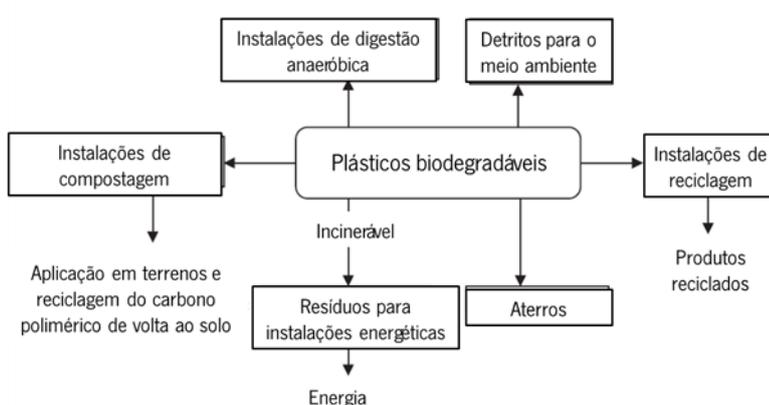


Figura 15 - Gestão dos resíduos dos plásticos biodegradáveis (Adaptada de [38]).

O tratamento biológico pode ser efetuado em condições aeróbias (presença de oxigénio – compostagem) ou anaeróbias (ausência de oxigénio – digestão anaeróbia), em diferentes condições de temperatura, oxigénio e microrganismos necessários, como pode ser observado na figura 14 e na tabela 4 [42].

Tabela 4 - Opções de tratamento biológico de resíduos (Adaptado de [42]).

Condições	Método de tratamento de gestão de resíduos	Microrganismos	Temperaturas
Aeróbia	Compostagem	Fungos, Bactérias	≤ 35°C (compostagem doméstica) 50-60°C (compostagem industrial)
Anaeróbia	Digestão Anaeróbia	Bactérias	≤ 35°C (digestão mesofílica) 50-60°C (digestão termofílica)

A compostagem é a degradação acelerada da matéria orgânica heterogênea por uma população microbiana mista num ambiente húmido, quente, aeróbio em condições controladas. A biodegradação produz um composto valioso como produto principal (rico em nutrientes que pode ser utilizado para fertilizar o solo), com água, CO₂, NO₂ e SO₂ (equação 1). Este CO₂ não contribui para o aumento dos gases de efeito de estufa porque já faz parte do ciclo de carbono [44]. Outra vantagem deste método é que o calor pode destruir agentes patogénicos presentes nos resíduos a eliminar [43].

Matéria Orgânica + Substrato + O₂



A digestão anaeróbia é um processo que converte a matéria orgânica na ausência de oxigénio em gás metano, dióxido de carbono, sulfureto de hidrogénio, amoníaco, água e um composto adequado para o solo (equação 2). Isto acontece devido a uma consequência de interações metabólicas entre os vários grupos de microrganismos. A digestão anaeróbia ocorre em quatro fases, hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese. O metano produzido pode ser ainda utilizado para produzir eletricidade e calor [42] [44] [45].

Matéria orgânica + H₂O + Nutrientes



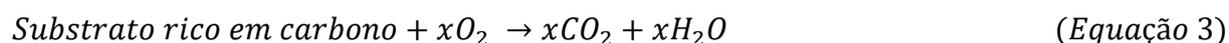
+ Calor

(Equação 2)

A biodegradabilidade de um produto plástico deve basear-se em resultados de testes credíveis de laboratórios certificados. Organizações de normalização em cooperação com especialistas de diversas áreas, criaram normas para os plásticos biodegradáveis. As organizações mais importantes no mundo nesta área são a ISO (Organização Internacional para a Normalização), a ASTM (Sociedade Americana de Teste e Materiais) e o CEN (Comité Europeu para a Normalização). Essas organizações fornecem protocolos (normas) de maneira a facilitar uma conformidade com a normalização [42].

1.5.1. Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem – Método da análise de dióxido de carbono libertado (ISO 14855:2012)

A norma ISO 14855:2012 especifica um método para determinar a biodegradabilidade aeróbia final de plásticos, formados por compostos orgânicos, sob condições controladas de compostagem. É medida a quantidade de dióxido de carbono libertado e o grau de desintegração do plástico no final do teste. Este é um método que pretende simular as condições aeróbicas típicas de compostagem da fração orgânica de resíduos sólidos mistos municipais. O material plástico em teste é misturado com o inóculo rico em microrganismos termofílicos derivado do composto. O composto é obtido pela biodegradação de uma mistura de resíduos vegetais com outras substâncias orgânicas e com um teor de minerais limitado. A compostagem ocorre num ambiente controlado de temperatura, humidade e arejamento. Este teste é assim desenvolvido de modo a produzir uma conversão percentual do carbono que compõe o material em teste em dióxido de carbono (equação 3), bem como a taxa de conversão [46] [47].



A figura 16 mostra o gráfico exemplo típico obtido, percentagem de biodegradação do bioplástico quando exposto às condições de compostagem em função do tempo. Primeiro ocorre a fase *lag* onde a população microbiana se adapta ao substrato rico em carbono (material plástico em teste). De seguida ocorre a fase de degradação durante a qual a população microbiana começa a utilizar o substrato de carbono para os processos celulares. Por fim ocorre a fase de planalto onde a utilização do substrato está em grande parte completa [41].

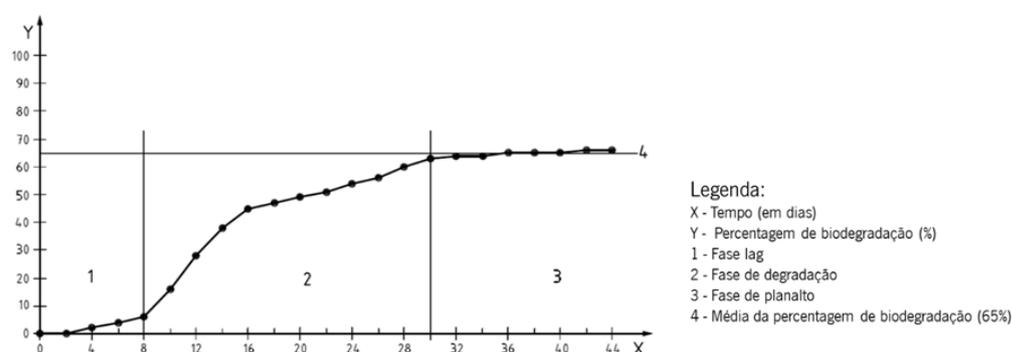


Figura 16 - Curva de biodegradação do bioplástico (Adaptada de [43]).

Na figura 17 é possível observar também a representação gráfica da evolução do dióxido de carbono no ensaio do material em teste e do ensaio em branco.

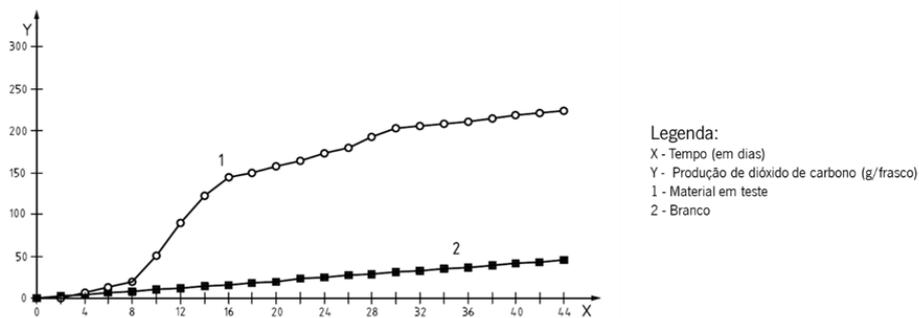


Figura 17 - Curva da evolução do CO₂. (Adaptada de [43]).

Para a realização deste método é necessário um sistema para determinar o dióxido de carbono como por exemplo o que é apresentado na figura 18. A determinação pode ser efetuada diretamente através da medição com um analisador TOC (Carbono Orgânico Total), por cromatografia gasosa, MODA (Analisador da Degradação Oxidativa Microbiana – medição gravimétrica [48]) ou, indiretamente por absorção numa solução básica [46]. Quando se utiliza uma solução básica o método utilizado é a titulação, no qual durante o processo de biodegradação o CO₂ é absorvido numa solução de hidróxido de bário (uma forma de armadilha) precipitando na forma de carbonato de bário. A quantidade de CO₂ é determinada titulando o hidróxido de bário capturado na armadilha com ácido clorídrico e com fenolftaleína como indicador. A quantidade total de CO₂ é então calculada tendo em conta o branco [40] [49].

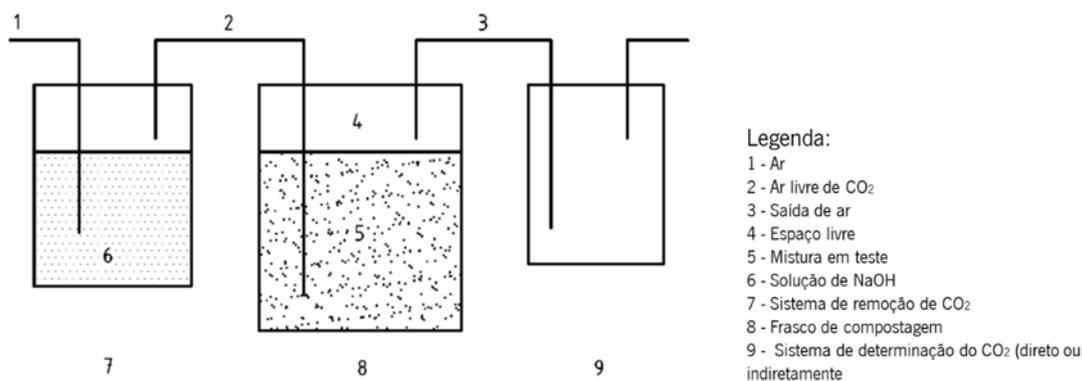


Figura 18 - Sistema para determinar o CO₂ libertado (Adaptada de [43]).

Para determinar a percentagem de biodegradação são utilizadas as equações 4 e 5:

$$(\%) \text{ Biodegradação} = \frac{(CO_2)_T - (CO_2)_B}{ThCO_2} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde, $(CO_2)_T$ é a quantidade cumulativa de dióxido de carbono libertada em cada frasco de compostagem (g/frasco), $(CO_2)_B$ é a média cumulativa da quantidade de dióxido de carbono libertada pelo frasco do branco (g/frasco) e $ThCO_2$ é a quantidade teórica de dióxido de carbono que pode ser produzido pelo material em teste (g/frasco), calculada a partir da equação 5:

$$ThCO_2 = M_{TOT} \times C_{TOT} \times \frac{44}{12} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde, M_{TOT} são os sólidos secos totais, em g, do material em teste no frasco de compostagem no início do ensaio, C_{TOT} é a proporção do carbono orgânico total nos sólidos secos do material em teste, em g por g, 44 é a massa molecular do dióxido de carbono e 12 é a massa atômica do carbono [46].

Os resultados obtidos no ensaio são válidos se a percentagem de biodegradação do material de referência é mais de 70% após 45 dias, se a diferença entre a percentagem de biodegradação do material entre os frascos é menor do que 20% no fim do ensaio e, se o inóculo no frasco em branco produziu mais de 50 mg, mas menos de 150 mg de dióxido de carbono por g de sólidos voláteis após 10 dias de incubação [46].

1.5.1.1. Titulação potenciométrica para a determinação do dióxido de carbono libertado

A potenciometria é um dos mais importantes métodos quantitativos eletroquímicos. O potencial de uma célula eletroquímica é medido sob condições estáticas, com uma passagem insignificante de corrente. A célula eletroquímica consiste em dois ou mais elétrodos. Um deles é o eletrodo de trabalho ou indicador sensível à concentração de analito. O outro é chamado de contra eletrodo que completa o circuito elétrico e fornece um potencial de referência contra o potencial medido no eletrodo de trabalho. O contra eletrodo pode ainda ser substituído por um eletrodo de referência onde não passa corrente e o potencial permanece constante e, um eletrodo auxiliar que completa o circuito elétrico [50].

O método mais utilizado para a medição do pH são os elétrodos combinados de membrana de vidro, onde na figura 19 pode ser observado um esquema da constituição deste elétrodo.

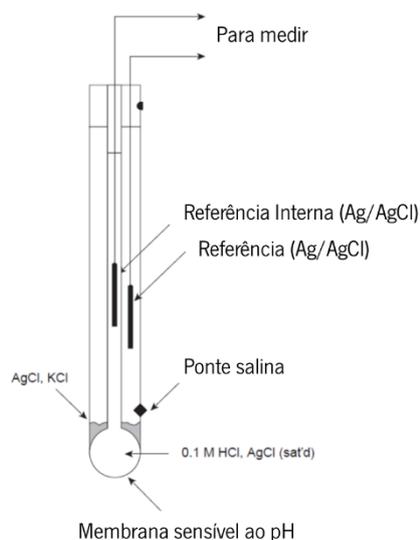


Figura 19 - Elétrodo combinado de vidro para a medição de pH (Adaptada de [47]).

O elétrodo de referência e o indicador são combinados numa sonda. A membrana de vidro do elétrodo indicador desenvolve um potencial dependente do pH devido à troca iónica entre os iões de hidrogénio em solução e os catiões univalentes na membrana de vidro. Sendo assim, a membrana de vidro na ponta do elétrodo funciona como um transdutor de pH. Um lado da membrana contacta com a amostra enquanto o outro lado contacta com a solução de enchimento, um eletrólito de composição e pH definido. Existe também o elemento de referência como por exemplo, um fio de prata revestido por cloreto de prata imerso na solução de enchimento. Este faz com que haja um contacto elétrico estável entre o circuito de medição de potencial do medidor de pH e do eletrólito em contacto com o lado interno da membrana de vidro. O elétrodo de membrana de vidro possui ainda uma junção líquida onde a solução de enchimento pode ter um contacto com a amostra também. A diferença de potencial entre o elétrodo indicador de pH e o elétrodo de referência fornece a medida de pH [51].

A titulação é uma técnica analítica clássica amplamente utilizada. É adicionado titulante com o auxílio de uma bureta até à mudança de cor da solução com o auxílio de um indicador corado. A precisão depende da aptidão do químico operador e em especial da habilidade para perceber a diferente mudança de cor. Hoje em dia, os sensores potenciométricos substituíram os indicadores corados e é utilizado uma bureta regulada com um motor pistão aumentando a precisão dos resultados. O titulante é adicionado segundo incrementos de volume como é ilustrado na figura 20 sendo que neste caso existe a vantagem de onde a curva é achatada os incrementos de volume adicionados são maiores, mas quando existe uma

queda ou subida abrupta de potencial os incrementos de volume são mais pequenos para ser obtido um valor mais preciso [52].

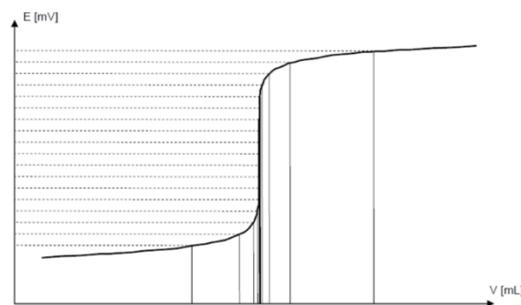
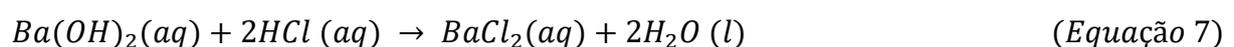
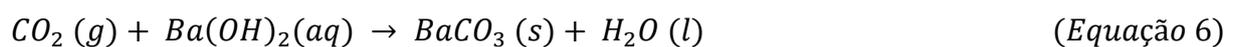


Figura 20 - Gráfico com a adição dinâmica de titulante (Adaptada de [49]).

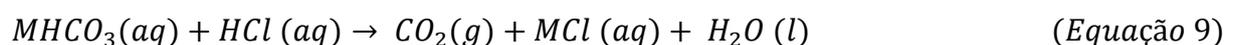
As vantagens da titulação automática é que são fácil e rapidamente efetuadas, são económicas comparativamente com outros métodos, isto é, o custo/desempenho é excelente, é versátil permitindo a seleção de vários modos de titulação e de muito simples utilização após implementação [53] [54].

A titulação potenciométrica de ácidos e bases fortes é simples, visto que há uma mudança abrupta do pH no ponto de equivalência [55]. Neste caso, o CO_2 produzido nos frascos de compostagem irá reagir com o hidróxido de bário ($\text{Ba}(\text{OH})_2$) e precipitar sob a forma de carbonato de bário (BaCO_3), equação 6. A quantidade de CO_2 libertado é determinada titulando o hidróxido de bário em excesso com ácido clorídrico (HCl) (equação 7) [56].



1.5.1.2. Análise do dióxido de carbono libertado através da análise do carbono inorgânico

O carbono inorgânico é a base estrutural dos compostos inorgânicos como por exemplo os iões carbonatos. A análise do carbono inorgânico consiste na análise do carbono contido em carbonatos dissolvidos em água. Pela acidificação da amostra com uma pequena quantidade ácido clorídrico, todos os iões carbonato são convertidos em dióxido de carbono, como pode ser observado nas equações 8 e 9, sendo *M* uma abreviatura de metal:



O dióxido de carbono convertido é detetado por um detetor de infravermelhos não dispersivo que emite um sinal de deteção analógico. É formado um pico medido pelo software do analisador de carbono, a área do pico é proporcional à quantidade de carbono inorgânico na amostra. Na figura 21 é possível observar um diagrama de funcionamento de um analisador de carbono, que para além de ser possível a análise do carbono inorgânico, permite a análise do carbono total através da oxidação da amostra [57] [58].

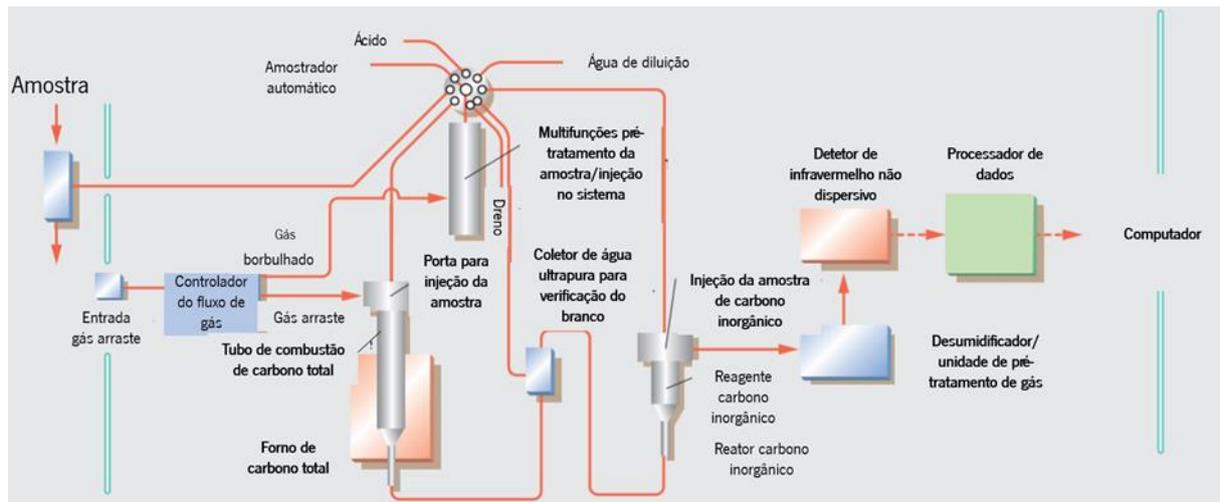


Figura 21 - Diagrama de funcionamento de um analisador de carbono (Adaptada de [55]).

1.5.1.3. Caracterização do inóculo e materiais em teste através de análise elementar

Os analisadores elementares de carbono, nitrogénio, hidrogénio e enxofre são capazes de determinar esses elementos de forma relativamente rápida em matrizes orgânicas ou outros tipos de materiais. No processo de combustão (a cerca de 1000 °C) o carbono é convertido em dióxido de carbono, o hidrogénio em água, o nitrogénio em nitrogénio gasoso ou óxidos de nitrogénio e o enxofre em dióxido de enxofre. Os produtos da combustão são conduzidos para fora da câmara de combustão através de um gás inerte, o hélio e passam por cobre com um grau de pureza elevado aquecido a cerca de 600 °C. A função do cobre é remover o oxigénio que não foi consumido na combustão inicial e converter óxidos de nitrogénio em nitrogénio gasoso. De seguida, os gases passam por *traps* absorventes de modo a deixar apenas o dióxido de carbono, água, nitrogénio e dióxido de enxofre. A deteção dos gases pode ser efetuada de várias formas sendo uma delas a separação por cromatografia gasosa com deteção por condutividade térmica. A quantificação dos elementos requer a calibração através da utilização de um padrão analítico de elevada pureza. A introdução da amostra no analisador depende do tipo de amostra, se esta for um sólido ou um líquido viscoso a amostra é pesada em cápsulas de estanho,

se amostra for líquida são utilizados *vials* de alumínio. Tanto os *vials* como as cápsulas de estanho têm de ser bem limpas de modo a evitar contaminações. O controlo do analisador é efetuado através de um computador que permite o programa funcionar e realizar os procedimentos de calibração [59] [60] [61]. Na figura 22 é possível observar um esquema da configuração de um analisador elementar.

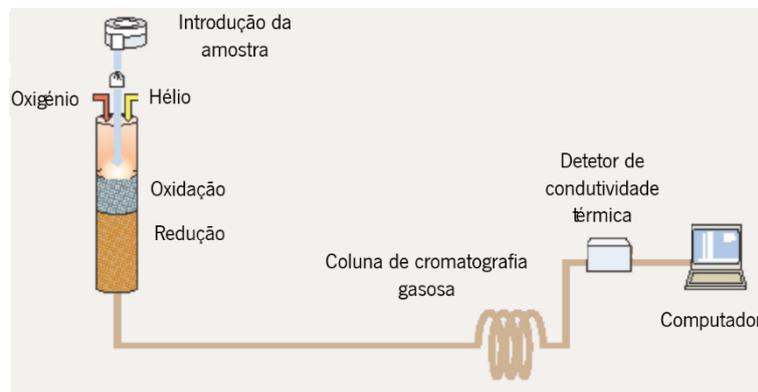


Figura 22 - Esquema da configuração de um analisador elementar (Adaptada de [56]).

1.5.2. Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia de alto teor de sólidos – Método de análise do biogás libertado (ISO 15985:2014)

Esta é uma norma desenvolvida para uma simulação otimizada de um processo de digestão anaeróbia e a determinação da biodegradabilidade final do material em teste sob condições de alto teor de sólidos (mais de 20% dos sólidos totais). O material em teste é misturado com o inóculo, sendo que esse inóculo é metanogénico e oriundo de digestores anaeróbios que operam no pré-tratamento de resíduos domésticos (de preferência apenas a fração orgânica). Depois de misturados o inóculo e o material em teste, são colocados num frasco de digestão estático. São intensivamente digeridos sob condições de temperatura e humidade ótimas por um período de 15 dias, ou mais, mediante a fase de planalto de biodegradação ser atingida (figura 16). Durante essa biodegradação são produzidos, metano, dióxido de carbono, água, sais minerais e novos organismos celulares microbianos (biomassa). O biogás (metano e dióxido de carbono) libertado é continuamente monitorizado e medido em intervalos regulares nos frascos com o material teste e em branco para determinar a produção de biogás cumulativa [62] [63]. Na figura 23 é apresentado um sistema de montagem modelo para o desenvolvimento do ensaio. Um exemplo de um sistema de medição é o utilizado por Hisaaki Yagi e colaboradores [64] chamado de MODA-B, onde o gás libertado a partir do frasco de digestão é recolhido num saco de amostragem de gás. Depois o volume é medido com uma seringa e o biogás é analisado através de cromatografia gasosa.

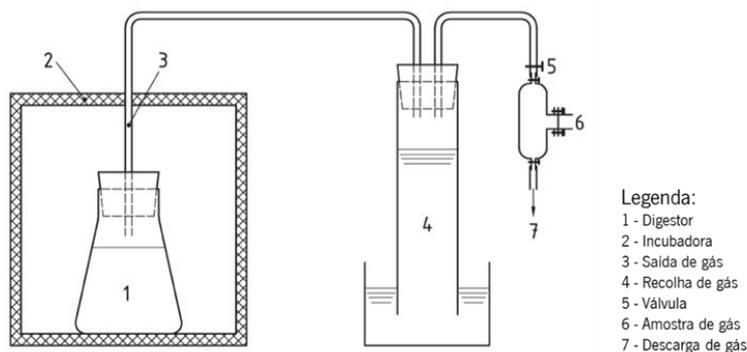


Figura 23 - Sistema de montagem para a digestão anaeróbia sob alto teor de sólidos (Adaptada de [59]).

A percentagem de biodegradação é dada pela razão entre a quantidade de biogás libertada do material em teste e a quantidade máxima teórica de biogás libertada pelo mesmo material (calculada a partir do carbono orgânico total medido). Primeiro é necessário calcular o carbono gasoso libertado dos frascos de digestão, C_g . Os volumes de metano e dióxido de carbono libertados são convertidos para volumes em condições normais de temperatura (273 K) e pressão (1013,25 hPa) (PTN) utilizando a equação dos gases ideais:

$$\frac{pV}{T} = \text{constante} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde, p é a pressão em hectopascal, V é o volume em litros e T é a temperatura em Kelvin.

Estes volumes são também corrigidos para variações da pressão do vapor de água e pressão atmosférica durante o teste. O volume corrigido de biogás libertado é convertido para a correspondente quantidade de carbono gasoso libertado utilizando a equação padrão:

$$\begin{aligned} & 22,4 \text{ mL de biogás em condições normais de pressão e temperatura} \\ & = 12 \text{ mg de } C_g \end{aligned} \quad (\text{Equação 11})$$

De seguida é possível então calcular a percentagem de biodegradação:

$$(\%) \text{ Biodegradação} = \frac{m_{C,g}(\text{teste}) - m_{C,g}(\text{branco})}{m_{C,i}} \times 100 \quad (\text{Equação 12})$$

Onde, $m_{C,g}$ é a quantidade de carbono gasoso libertado na amostra teste e no branco, em g e $m_{C,i}$ é a quantidade de carbono inicial presente no material em teste, em g.

As equações acima são as mesmas que são utilizadas para calcular a percentagem de biodegradação do material de referência. Os valores obtidos com o material de referência irão ainda ser utilizados para validar os resultados do ensaio.

De modo a expressar os resultados podem ainda ser construídos gráficos com a quantidade cumulativa de biogás libertado a partir de cada frasco de digestão (branco, material teste e material de referência) em função do tempo e a curva de biodegradação em função do tempo para o material teste e material de referência. O resultado final do ensaio é dado através da média da percentagem de biodegradação a partir da fase de planalto [62].

Os resultados do ensaio são considerados válidos se a percentagem de biodegradação do material de referência é mais de 70% depois de 15 dias de ensaio e a diferença entre a percentagem de biodegradação do material de referência entre os frascos é menos de 20% [62].

Capítulo 2 - Parte Experimental

Neste capítulo é apresentado o equipamento, reagentes, preparação dos materiais em teste, materiais de referência, inóculo, procedimento experimental e como foi determinada a percentagem de perda de massa. Este capítulo encontra-se dividido em dois subcapítulos principais, um sobre o método da análise do dióxido de carbono libertado realizado de acordo com a ISO 14855:2012 – Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem e, outro subcapítulo sobre o método de análise do biogás libertado realizado de acordo com a ISO 15985:2014 - Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia de alto teor de sólidos.

A partir deste capítulo o material em teste PLA, passa a ser designado pelo seu nome comercial – APIMAT.

2.1. Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem (ISO 14855:2012)

2.1.1. Preparação do inóculo

O inóculo utilizado foi um composto bem arejado produzido uma semana antes do início dos ensaios e teve origem numa instalação de compostagem, a Lipor. Foi tido em atenção de que o inóculo fosse homogéneo e livre de objetos inertes grandes como o vidro ou pedras por exemplo, e tivesse uma idade entre os dois e quatro meses.

Foi preparada uma mistura de uma parte do inóculo com cinco partes de água destilada, no fim deste processo foi efetuada a leitura do pH com o equipamento *HANNA HI 98160* apresentado na figura 24. Para além do pH foram determinados os sólidos secos totais, os sólidos voláteis e o teor de humidade, e ainda o teor de carbono, hidrogénio e nitrogénio através de análise elementar.

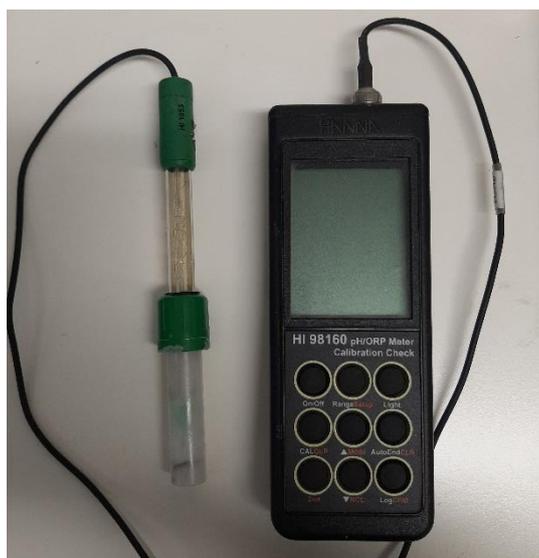


Figura 24 - Medidor de pH HANNA HI 98160.

2.1.2. Preparação do material teste e material de referência

O material de referência utilizado foi celulose microcristalina em pó (figura 25) e os materiais em teste são cápsulas de café trituradas contendo os biopolímeros em estudo. O PHA e APIMAT utilizados estavam sob forma de grânulos com uma granulometria inferior a $2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$, como pode ser observado na figura 25. Foram efetuadas análises elementares ao teor de carbono, nitrogénio e hidrogénio. Foi também determinado o teor de humidade, sólidos secos totais e sólidos voláteis.

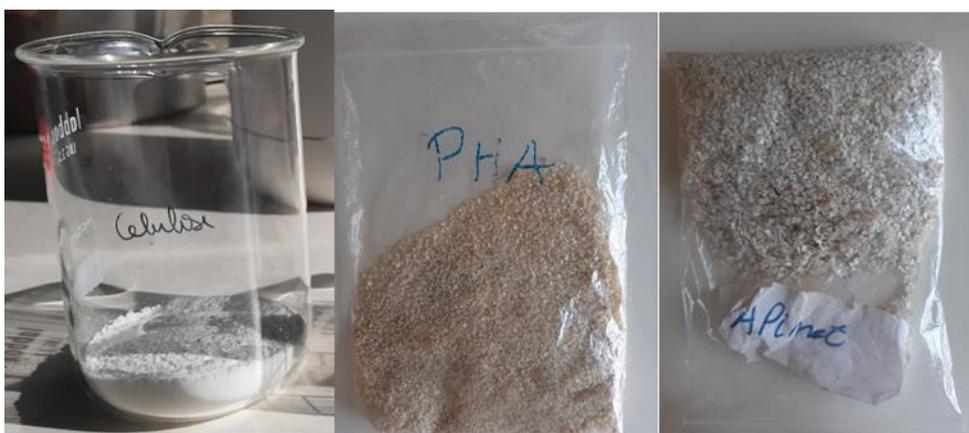


Figura 25 - Material de referência e materiais em teste utilizados, PHA e APIMAT, da esquerda para a direita.

Na figura 26 é possível observar os três materiais utilizados nos respetivos frascos de compostagem.



Figura 26 - Materiais em teste (APIMAT e PHA) e material de referência (celulose) nos frascos de compostagem, da esquerda para a direita.

2.1.3. Procedimento do ensaio

Foram configurados frascos de compostagem de 1000 mL para os materiais em teste (inóculo com PHA e APIMAT), material de referência (inóculo com celulose) e para o branco (inóculo apenas). A razão entre a massa seca do inóculo e a massa seca do material em teste deve ser cerca de 6:1 [46]. Foi colocada uma quantidade igual de inóculo em todos os frascos de compostagem de modo a encher cerca de três quartos do volume do frasco deixando um espaço suficiente para a agitação manual da mistura em teste. Na figura 27 é possível observar os frascos de compostagem antes de iniciar o ensaio e na tabela 5 estão indicadas as quantidades de inóculo e material em teste adicionados a cada frasco.



Figura 27 - Frascos de compostagem antes de iniciar o ensaio, da esquerda para a direita em primeiro o APIMAT, seguido do PLA, celulose e branco.

Tabela 5 - Quantidade de material em teste e inóculo em cada frasco de compostagem.

Material em teste	Quantidade de material em teste introduzido no frasco (g)	Quantidade de inóculo introduzido no frasco (g)
Material de referência (Celulose)	50,01	301,37
Branco	-	350,64
PHA	50,02	300,89
APIMAT	50,08	300,59

Os frascos preparados foram colocados num banho de água a 58 ± 2 °C. Foi iniciado o arejamento com ar livre de CO₂ através da passagem do ar numa solução de 20 g/L de hidróxido de sódio (NaOH). Na figura 28 pode ser observado um esquema da montagem do ensaio. Os números 5 e 6 correspondem a tubos de passagem de gás de modo a ligar os frascos de compostagem com o sistema de fornecimento de ar e sistema de medição de CO₂. Foi utilizado um fluxo de ar suficientemente elevado para garantir as condições aeróbias durante o ensaio.

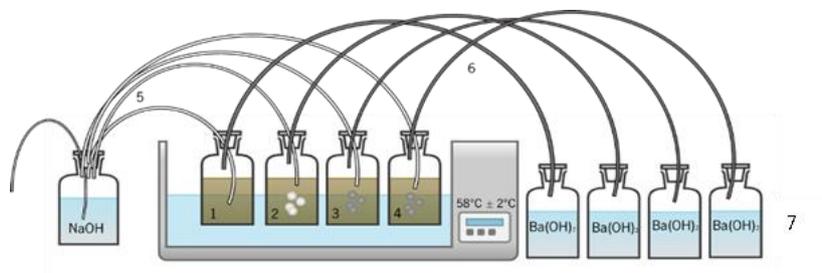


Figura 28 - Sistema de montagem do ensaio. Legenda: 1- Frasco em branco; 2 – Frasco com material de referência; 3 – Frasco com PHA; 4 – Frasco com APIMAT; 5 – Tubos de passagem de ar livre de CO₂; 6 – Tubo de saída de gás; 7 – Frascos com Ba(OH)₂.

Na figura 29 pode-se observar uma fotografia do sistema utilizado no ensaio.



Figura 29 - Sistema de montagem real utilizado no ensaio.

Durante o ensaio, dependendo da fase (fase *lag*, fase de degradação, fase de planalto) em que o ensaio se encontrava o intervalo de medição do CO₂ variava. Para essa medição, foram utilizadas soluções de hidróxido de bário com concentração 0,250 mol/L (indicadas com o número 7 na figura 28) que eram substituídas por uma solução nova de hidróxido de bário a cada medição.

Os frascos de compostagem eram agitados semanalmente de modo a garantir um ataque uniforme dos microrganismos. Era também verificado visualmente a humidade dos frascos de compostagem não devendo estar presente água livre ou aglomerados de material. Condições muito secas podiam ser visualizadas também pela ausência de condensado na parte de cima do frasco. No fim do ensaio foram determinados os sólidos secos totais, os sólidos voláteis e o teor de humidade da mistura presente em todos os frascos de compostagem.

2.1.4. Análise dos sólidos secos totais e teor de humidade

Transferiram-se cerca de 10 g de amostra para copos previamente pesados e colocados na estufa *Stericell MMM Medcenter* (figura 30) a 105 °C durante 18 horas. Ao fim das 18 horas e depois de arrefecerem, os copos foram novamente pesados. O teor de humidade foi calculado utilizando a equação 13 e os sólidos secos totais através da equação 14.

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{\text{massa}_{\text{inicial}} - \text{massa}_{\text{final}}}{\text{massa}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Equação 13})$$

Onde $massa_{inicial}$ é a massa da amostra antes de ser colocada na estufa, em g e $massa_{final}$ é a massa da amostra depois de retirada da estufa, em g.

$$Sólidos Secos Totais (\%) = \frac{massa_{final}}{massa_{inicial}} \times 100 \quad (Equação 14)$$

Onde $massa_{inicial}$ é a massa da amostra antes de ser colocada na estufa, em g e $massa_{final}$ é a massa da amostra depois de retirada estufa, em g.



Figura 30 - Estufa Stericell MMM Medcenter.

2.1.5. Análise dos sólidos voláteis

Os cadinhos foram colocados previamente na mufla *Termolab* (figura 31) a 550 °C durante 30 minutos. Depois foram transferidas cerca de 10 g de amostra para os mesmos cadinhos, como pode ser observado na figura 32 e colocados na mufla a 550 °C durante 2 horas. Ao fim desse tempo os cadinhos foram novamente pesados.



Figura 31 - Mufla Termolab.

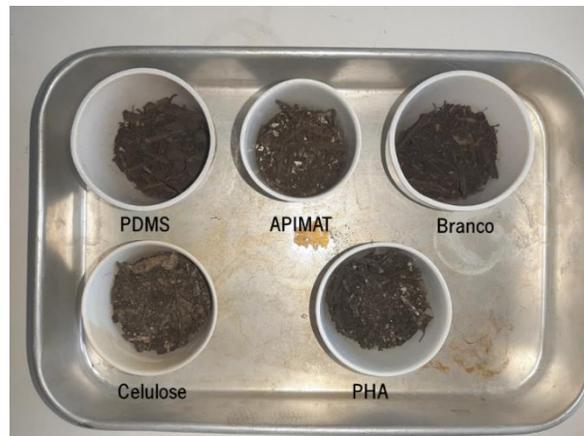


Figura 32 - Cadinhos com as amostras (conteúdo dos frascos) antes de serem colocados na mufla.

A percentagem de sólidos voláteis foi calculada usando a equação 15.

$$\text{Sólidos Voláteis (\%)} = \frac{\text{massa}_{\text{inicial}} - \text{massa}_{\text{final}}}{\text{massa}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (15)$$

Onde $\text{massa}_{\text{inicial}}$ é a massa da amostra antes de ser colocada na mufla, em g e $\text{massa}_{\text{final}}$ é a massa da amostra depois de retirada da mufla, em g.

2.1.6. Determinação do dióxido de carbono libertado através da titulação potenciométrica

Para a determinação do dióxido de carbono libertado é efetuada a titulação da amostra com HCl 0,05 mol/L recorrendo a um titulador automático (figura 33), equipado com um elétrico combinado de vidro para a leitura de pH e um agitador magnético.



Figura 33 - Titulador automático *Titroline 5000 SI Analytics*.

Foi retirada uma alíquota de 5 mL de amostra para um copo e de seguida adiciona-se 95 mL de água destilada. Seleciona-se o método de titulação automática e de modo dinâmico para um ponto de equivalência com os seguintes parâmetros:

- *Measured value:* pH
- *Drift:* normal
- *Initial waiting time:* 5 s
- *Dynamic:* steep
- *Dosing speed:* 100%

O volume de HCl utilizado na titulação é usado na equação 16 [56] para obter a massa de CO₂ em mg, que ficou retida no frasco de absorção:

$$m = \left(\frac{2c_B \times V_{B0}}{c_A} - V_A \times \frac{V_{Bt}}{V_{BZ}} \right) \times C_A \times 22 \quad (\text{Equação 16})$$

Onde, m é a massa de CO₂ apreendida na armadilha em mg, c_A é a concentração da solução de HCl em mol/L, c_B é a concentração da solução de Ba(OH)₂ em mol/L, V_{B0} é o volume da solução de Ba(OH)₂ no início do teste em mL, V_{Bt} é o volume da solução de Ba(OH)₂ no tempo t antes da titulação,

em mL, V_{BZ} é o volume da alíquota da solução de $Ba(OH)_2$ utilizada na titulação, em mL, V_A é o volume da solução de HCl utilizada na titulação, em mL e, 22 é metade da massa molecular do CO_2 .

2.1.7. Análise do carbono libertado através do analisador de carbono

As determinações de carbono inorgânico foram realizadas num analisador de carbono *Shimadzu TOC-V CSH* (figura 34). Neste equipamento, a amostra é injetada, através de um processo automatizado, numa câmara de reação, onde é acidificada e todo o carbono inorgânico é convertido em CO_2 . O CO_2 é quantificado num detetor de infravermelhos não dispersivo e o seu valor é dado diretamente pelo equipamento em mgC/L.

Devido à elevada quantidade de sólidos presente nas amostras, estas foram diluídas com água ultrapura na razão de 1:100, tendo a determinação do carbono inorgânico sido realizada para as amostras diluídas e o resultado obtido multiplicado pelo fator de diluição (100). As amostras foram bem agitadas imediatamente antes da medição. A análise foi feita em duplicado, tendo o desvio padrão dos dois valores obtidos sido, para todas as amostras, inferior a 1,2%.



Figura 34 - Analisador de carbono *Shimadzu TOC-V CSH*.

Previamente à análise das amostras foi traçada uma curva de calibração utilizando soluções padrão de hidrogenocarbonato de sódio e carbonato de sódio. Foi preparada uma solução padrão de concentração 100 mgC/L utilizando 0,350 g de hidrogenocarbonato de sódio (previamente seco a temperatura entre 105 °C e 120 °C durante duas horas e arrefecido num exsiccador) e 0,441 g de carbonato de sódio (previamente seco a temperatura entre 280 °C e 290 °C durante duas horas e arrefecido num exsiccador) dissolvidos em água ultrapura num balão volumétrico de 1 L. A partir desta

solução foi preparada uma solução de concentração 50 mgC/L que foi usada para obter soluções com concentração entre 5 e 50 mgC/L. Estas soluções foram introduzidas no analisador de carbono *Shimadzu TOC-V CSH* e foi traçada a reta de calibração da área obtida em função da concentração dos padrões de hidrogenocarbonato de sódio e carbonato de sódio (figura 35).

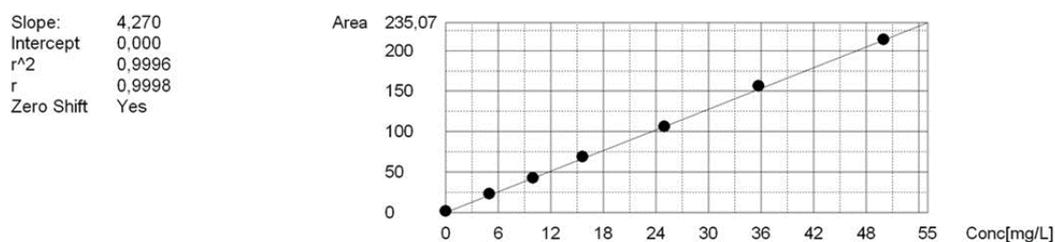


Figura 35 - Curva de calibração do carbono inorgânico realizada pelo software *TOC-V*.

2.1.8. Determinação do carbono, hidrogénio e nitrogénio através de análise elementar

A análise elementar ao carbono, hidrogénio e nitrogénio das amostras foi realizada no analisador elementar *TruSpec CHN Leco* (figura 36) com o auxílio do software *TruSpec*, obtendo-se os valores de carbono, hidrogénio e nitrogénio em percentagem.



Figura 36 - Analisador elementar *TruSpec CHN Leco*.

O modelo de temperaturas utilizado foi de 25 segundos em *High*, 150 segundos em *Low* e 10 segundos em *High*. As curvas de calibração foram efetuadas a partir de um padrão de ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) com percentagem de carbono de 41,07%, 5,55% de hidrogénio e 9,56% nitrogénio.

Antes de serem analisadas as amostras foi efetuada a medição de um padrão de EDTA de massa de 0,1505 g colocado numa folha de estanho (figura 37) para se verificar se os valores obtidos pelo software estavam de acordo com os valores de referência do padrão. De seguida foram analisadas as amostras, pesadas (cerca de 0,100 g) e colocadas numa folha de estanho. A partir das curvas de calibração o software fornecia a percentagem de carbono, nitrogénio e hidrogénio na amostra.



Figura 37 - Folhas de estanho.

2.1.9. Determinação da percentagem de perda de massa segundo a norma ISO 14855:2012

Nesta secção são apresentadas as expressões utilizadas para calcular a percentagem do grau de biodegradação através da determinação da perda de massa.

- a) Pesou-se cada frasco vazio de modo a obter a “tara” (ves_v), em g.
- b) Determinou-se o teor de humidade (mat_w), os sólidos secos totais (mat_d) e os sólidos secos voláteis (mat_v) de cerca de 10 g de material teste e calculou-se a razão entre os sólidos secos totais e o teor de humidade ($mat_{d/w}$) e a razão entre os sólidos voláteis e os sólidos secos totais ($mat_{v/d}$).
- c) Utilizou-se o valor obtido para o teor de massa húmida do material teste introduzido no frasco no início do ensaio (mat_{wfs}) para calcular os sólidos voláteis (mat_{vvs}) em cada frasco de compostagem de acordo com a equação 17, expressando os resultados em g por frasco:

$$mat_{vfs} = mat_{wfs} \times mat_{d/w} \times mat_{v/d} \quad (\text{Equação 17})$$

- d) Determinou-se antes do início do ensaio, o teor de humidade (com_w), os sólidos secos totais (com_{ds}) e os sólidos voláteis (com_{vs}) de cerca de 10 g do inóculo. Calcular a razão entre os sólidos secos totais e o teor de humidade ($com_{ds/w}$) e a razão entre os sólidos voláteis e os sólidos secos totais ($com_{vs/ds}$).

- e) Utilizou-se o valor obtido para o teor de humidade do inóculo introduzido no frasco de compostagem no início do ensaio (com_{wfs}) para calcular o os sólidos voláteis no inóculo (com_{vfs}) em cada frasco de acordo com a equação 18, expressando o resultado em g por frasco:

$$com_{vfs} = com_{wfs} \times com_{ds/wfs} \times com_{vs/ds} \quad (\text{Equação 18})$$

- f) Pesou-se cada frasco com o material teste e o inóculo misturados e o frasco em branco contendo apenas o inóculo no início do ensaio (ves_{ms} e ves_{Bs}) e no fim do ensaio (ves_{me} e ves_{Be}), expressando o resultado em g por frasco.

- g) Verificou-se as quantidades corretas de material teste (mat_{wfs}), inóculo (com_{wfs}) e água (wat_{add}) que foram adicionadas aos frascos de compostagem utilizando a equação 19 para a mistura em teste (ves_{am}) e a equação 20 para o branco (ves_{aB}):

$$ves_{am} = ves_y + ves_{ms} = ves_y + com_{wfs} + mat_{wfs} + wat_{add} \quad (\text{Equação 19})$$

$$ves_{aB} = ves_y + ves_{Bs} = ves_y + com_{wfs} + wat_{add} \quad (\text{Equação 20})$$

- h) Para cada frasco em teste calculou-se o teor de humidade da mistura do material teste com o inóculo que permanecem no fim do ensaio (mix_{wfe}) utilizando a equação 21 e para o frasco em branco calculou-se a quantidade de inóculo (com_{wBe}) restante utilizando a equação 22, expressando os resultados em g por frasco:

$$mix_{wfe} = ves_{me} - ves_y \quad (\text{Equação 21})$$

$$com_{wBe} = ves_{Be} - ves_y \quad (\text{Equação 22})$$

- i) Tiraram-se amostras representativas de 10 g da mistura do inóculo e do material em teste de cada frasco no fim do ensaio. Determinou-se o teor de humidade (mix_{we}), os sólidos secos totais (mix_{de}) e os sólidos voláteis (mix_{ve}) e calcular a razão entre os sólidos secos totais e o teor de humidade ($mix_{de/we}$) e a razão entre os sólidos voláteis e os sólidos secos ($mix_{ve/de}$). Determinou-se da mesma forma a razão dos sólidos secos totais e do teor de humidade ($com_{de/we}$) e a razão entre os sólidos voláteis e os sólidos secos ($com_{ve/de}$) do frasco em branco apenas com o inóculo.
- j) Calculou-se os sólidos voláteis em cada mistura teste no fim do ensaio (mix_{vfe}) utilizando a equação 23 e os sólidos voláteis no frasco em branco com o inóculo (com_{vBe}) utilizando a equação 24, expressando os resultados em g por frasco:

$$mix_{vfe} = mix_{wfe} \times mix_{de/we} \times mix_{ve/de} \quad (\text{Equação 23})$$

$$com_{vBe} = com_{wBe} \times com_{de/we} \times com_{ve/de} \quad (\text{Equação 24})$$

- k) Calculou-se os sólidos voláteis no material teste em cada frasco no fim do ensaio (mat_{vfe}) utilizando a equação 25, expressando o resultado em g por frasco:

$$mat_{vfe} = mix_{vfe} - com_{vBe} \quad (\text{Equação 25})$$

- l) A partir dos sólidos voláteis, calculou-se a quantidade de material teste degradado (mat_{deg}) em cada frasco utilizando a equação 26, expressando os resultados em g por frasco:

$$mat_{deg} = mat_{vfs} - mat_{vfe} \quad (\text{Equação 26})$$

- m) Para cada frasco, calculou-se a percentagem de perda de massa do material teste, isto é, a percentagem do grau de biodegradação D_v calculado a partir da perda em sólidos voláteis, utilizando a equação 27:

$$D_v = \frac{mat_{deg} \times 100}{mat_{vfs}} \quad (\text{Equação 27})$$

- n) Determinar a percentagem de biodegradação do material de referência utilizando as mesmas expressões (equações 17 a 27).

2.2. Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia e alto teor de sólidos (ISO 15985:2014)

2.2.1. Preparação do inóculo

O inóculo foi obtido a partir de um digestor anaeróbio utilizado no pré-tratamento de resíduos domésticos. O digestor esteve a operar pelo menos durante 4 meses sobre condições secas (mais de 20% de sólidos totais). O inóculo foi colocado a pós fermentar durante 7 dias nas mesmas condições de temperatura de onde teve origem. Assim, este não era alimentado e permitia que fermentasse anaerobicamente por ele mesmo, fazendo com que partículas maiores fossem degradadas durante esse período, e reduzindo o ruído de fundo da degradação do próprio inóculo.

Foi efetuada a leitura de pH com o equipamento apresentado na figura 24 e foram determinados os sólidos secos totais, sólidos voláteis e teor de humidade seguindo o procedimento indicado no ponto 2.1.4. e 2.1.5..

2.2.2. Preparação do material teste e material de referência

O material em teste e o material de referência foram os mesmos que foram utilizados nos ensaios da norma ISO 14855:2012 – Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem e são descritos no ponto 2.1.2..

2.2.3. Procedimento dos ensaios

Foram configurados frascos de compostagem de 1000 mL para os materiais em teste (inóculo com PHA e APIMAT), material de referência (inóculo com celulose) e para o branco (inóculo apenas). Na figura 38 é possível observar os frascos antes de iniciar o ensaio e na tabela 6 estão indicadas as quantidades de inóculo e de material em teste adicionados a cada frasco.



Figura 38 - Frascos de compostagem antes de iniciar o ensaio.

Tabela 6 - Quantidade de material em teste e inóculo em cada frasco.

Material em teste	Quantidade de material em teste introduzido no frasco (g)	Quantidade de inóculo introduzido no frasco (g)
Branco	-	703,02
Celulose	20,97	705,40
PHA	20,35	704,45
APIMAT	25,90	703,37

Depois de misturados o inóculo, os materiais em teste e o material de referência foram agitados durante 2 a 3 minutos todos com a mesma intensidade. De seguida, foram colocados num banho de água a 52 ± 2 °C e conectados com o sistema de medição do biogás libertado, a configuração do ensaio pode ser observada na figura 39.



Figura 39 - Sistema de configuração do ensaio.

O sistema de medição do biogás consistiu num *Ritter MilliGascounter* que pode ser observado na figura 40.



Figura 40 - Ritter MilliGascounter.

O esquema deste sistema de medição pode ser observado na figura 41. O gás que se pretende que seja medido flui através de uma zona de entrada (3) e de um tubo micro capilar (9) dentro da placa de base. Depois segue para o invólucro do *MilliGascounter* que é preenchido com um líquido (*Silox Packing Fluid*) (12). O gás sobe em pequenas bolhas através do líquido *Silox* e é captado na célula de medição (13). Essa célula de medição é constituída por duas câmaras de medição, que são sucessivamente preenchidas pelas bolhas de gás que sobem. Quando uma das câmaras de medição é preenchida, a flutuabilidade da câmara cheia faz com que a célula de medição caia abruptamente. A segunda câmara de medição começa a encher e a primeira começa a esvaziar ao mesmo tempo. Um impulso é registado pelo contador de unidade fornecendo o resultado em mL (1) quando o íman no topo da câmara de medição cruza sob 2 sensores magnéticos no topo do painel do *Milligascounter*. O gás medido sai pela abertura de saída (4) [65].

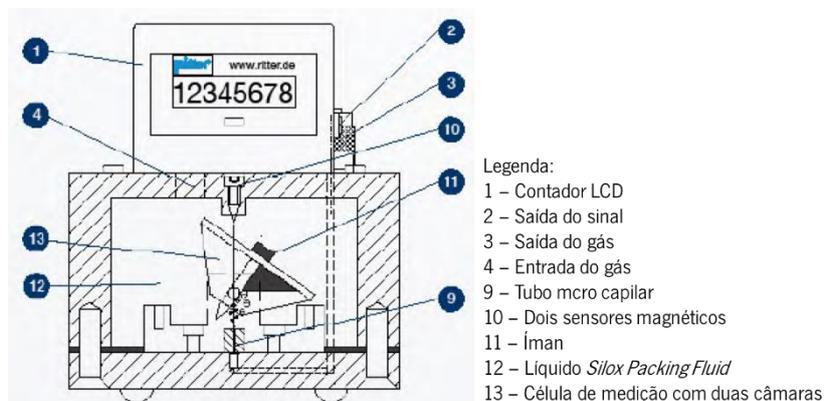


Figura 41 - Esquema do sistema de medição Ritter Milligascounter.

O intervalo de medição variou, no início do ensaio as medições eram mais frequentes, a partir do dia 16 as medições passaram a ser efetuadas com um intervalo de tempo maior, de cerca de 24 horas.

2.2.4. Determinação da percentagem de perda de massa segundo a norma ISO 15985:2014

Nesta secção são apresentadas as expressões utilizadas para calcular a percentagem de perda de massa para os materiais em teste e material de referência. Sendo que i representa os materiais em teste (PHA ou APIMAT) ou material de referência (celulose).

$$\text{Perda de massa para o material em teste } i \text{ (\%)} = \frac{b_i}{a_i} \quad (\text{Equação 28})$$

Onde, a_i é a massa de sólidos voláteis no material teste i no início do ensaio (g/frasco) e b_i é a perda em massa de sólidos voláteis do material teste i (g/frasco).

A perda de massa no material teste i , b_i (%) é calculada através da seguinte fórmula:

$$\frac{[(w_{t1,i} \times d_{t1,i} \times v_{t1,i}) - (w_{t2,i} \times d_{t2,i} \times v_{t2,i})] - [(w_{b1} \times d_{b1} \times v_{b1}) - (w_{b2} \times d_{b2} \times v_{b2})]}{[(w_{t1,i} \times d_{t1,i} \times v_{t1,i}) - (w_{b1} \times d_{b1} \times v_{b1})]} \quad (\text{Equação 29})$$

Onde:

$w_{t1,i}$ é a massa húmida no frasco i no início do ensaio (g/frasco);

$w_{t2,i}$ é a massa húmida no frasco i no fim do ensaio (g/frasco);

w_{b1} é a massa húmida no frasco em branco no início do ensaio (g/frasco);

w_{b2} é a massa húmida no frasco em branco no fim do ensaio (g/frasco);

$d_{t1,i}$ são os sólidos secos no frasco em teste i (% relativa para a massa húmida);

$d_{t2,i}$ são os sólidos secos no frasco em teste i no fim do ensaio (% relativa para a massa húmida);

d_{b1} são os sólidos secos no frasco em branco no início do ensaio (% relativa para a massa húmida);

d_{b2} são os sólidos secos no frasco em branco no fim do ensaio (% relativa para a massa húmida);

$v_{t1,i}$ são os sólidos voláteis no frasco em teste i no início do ensaio (% relativa para os sólidos secos);

$v_{t2,i}$ são os sólidos voláteis no frasco em teste i no fim do ensaio (% relativa para os sólidos secos);

v_{b1} são os sólidos voláteis no frasco em branco no início do ensaio (% relativa para os sólidos secos);

v_{b2} são os sólidos voláteis no frasco em branco no fim do ensaio (% relativa para os sólidos secos).

Capítulo 3 - Apresentação e discussão dos resultados

Este capítulo está dividido em dois subcapítulos onde são apresentados e discutidos os resultados obtidos com cada norma. No primeiro subcapítulo são apresentados os resultados relativos à aplicação da norma ISO 14855:2012. É efetuada a caracterização do inóculo e dos materiais em teste. Depois são apresentados os resultados relativos à quantidade de dióxido de carbono libertado e percentagem de biodegradação através do analisador de carbono. Num outro ponto é abordado a determinação do dióxido de carbono libertado através da titulação potenciométrica. É também determinada a perda de massa da matéria orgânica dos materiais em teste. Por fim, verificou-se o cumprimento dos requisitos da Norma, de forma a validar a biodegradabilidade dos materiais em teste.

No segundo subcapítulo são apresentados os resultados relativos à aplicação da norma ISO 15985:2014. Foi efetuada a caracterização do inóculo e é apresentada a quantidade de carbono nos materiais em teste introduzidos nos frascos. De seguida são exibidos os resultados relativos à quantidade de biogás libertado e da percentagem de biodegradação para cada material. É ainda abordada a determinação da perda de massa e, por fim é verificada a validação dos resultados obtidos através dos requisitos apresentados na Norma.

3.1.Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem (ISO 14855:2012)

3.1.1. Caracterização do inóculo

Antes de ser iniciado o ensaio foram determinadas as características do inóculo utilizado visto que, a sua composição é um dos fatores determinantes para a biodegradação pois possui os microrganismos bem como os nutrientes de que estes necessitam para crescer e se multiplicarem [66]. Na tabela 7 são apresentados os valores de percentagem de sólidos secos totais, teor de humidade, percentagem de sólidos voláteis, teor de carbono, hidrogénio e nitrogénio, assim como os valores recomendados segundo a ISO 14855:2012.

Tabela 7 - Características do inóculo utilizado e valores recomendados pela ISO 14855:2012.

Parâmetro	ISO 14855:2012	Inóculo
Sólidos secos totais (%)	50-55	59,00
Sólidos Voláteis (%)	< 30	32,30

Teor de humidade (%)	-	41,0
Teor de Carbono (%)	-	32,3
Teor de Nitrogénio (%)	-	1,56
Teor de Hidrogénio (%)	-	5,21
Razão C/N	10-40	20,71
Atividade do inóculo¹	50-150	58

¹ A atividade do inóculo corresponde à massa de CO₂ (em mg) por g de sólidos voláteis nos primeiros 10 dias do ensaio.

Relativamente aos sólidos secos totais, o inóculo utilizado tinha um conteúdo muito próximo do estabelecido pela norma ISO, o mesmo acontece com os sólidos voláteis. De realçar que o conteúdo de sólidos voláteis é uma indicação da matéria orgânica presente no inóculo. A recomendação é de que os sólidos voláteis se mantenham num valor baixo de modo a evitar o efeito primário, isto é, se houver uma grande quantidade de matéria orgânica presente no inóculo, os microrganismos podem preferi-lo em detrimento do material em teste afetando a medição da biodegradabilidade [67].

A razão entre o carbono e o nitrogénio manteve-se dentro do intervalo especificado na ISO. Este é também um fator importante visto que uma razão elevada de C/N faz com que haja uma taxa de biodegradação mais lenta, pois o nitrogénio é um fator relevante no crescimento da população microbiana. Uma razão de C/N baixa está relacionado com o excesso de nitrogénio convertido em amoníaco (NH₃) o que não é desejável [67].

A atividade do inóculo, medida pela produção de CO₂ nos primeiros 10 dias do ensaio encontra-se dentro dos valores requeridos pela norma ISO, e este é um dos parâmetros necessários para a validação dos resultados como irá ser abordado num ponto a seguir. Este parâmetro pode também ser utilizado como referência no que diz respeito à estabilidade do inóculo que é a taxa ou grau de decomposição de matéria orgânica [68]. É necessário ter em atenção se o inóculo utilizado é estável e não produz enormes quantidades de CO₂ que possa afetar a sua medição nos frascos que possuam os materiais a serem testados. Assim sendo, uma produção baixa de CO₂ no frasco em branco, que contém apenas o inóculo é o mais desejável de modo a obter uma melhor sensibilidade das medições.

Para além dos parâmetros mencionados na tabela 7, existem outros fatores que podem afetar a biodegradação, como o pH que foi mantido entre 7 e 9, isto porque o pH neutro é o ideal para a sobrevivência e atividade normal dos microrganismos [69]. Outro fator é a temperatura que afeta os microrganismos. A temperatura mantida no ensaio foi de 58 ± 2 °C, pois temperaturas mais elevadas

do que 60 °C podem provocar a morte de vários microrganismos, aumentar a secagem do inóculo e acelerar reações como por exemplo a hidrólise [69]. Sendo este um ensaio de compostagem aeróbia, a disponibilidade de oxigênio nas quantidades adequadas é também fundamental, se a taxa de fluxo for baixa pode significar uma diminuição na taxa de biodegradação. No entanto, se a taxa for demasiado elevada pode ocorrer a secagem e arrefecimento do inóculo o que faz com a taxa de biodegradação seja também menor [70]. Por último, a quantidade de água disponível é crucial, pois para além de ser o meio de transporte e distribuição dos microrganismos e nutrientes é também um fator decisivo para o desenvolvimento e atividade microbiana. Contudo, um excesso de uma quantidade de água pode reduzir o espaço de cabeça resultando numa carência de oxigênio [69]. Por isso, durante o ensaio os frascos foram agitados frequentemente para manter uma mistura uniforme. Conforme foi referido, isso é um fator favorável para aumentar a biodegradação e aumentar a atividade biológica do inóculo [71].

3.1.2. Caracterização dos materiais em teste e determinação da quantidade teórica de dióxido de carbono que pode ser produzido

Tal como referido anteriormente foram utilizados três materiais, a celulose (material de referência), PHA e PLA (designado por APIMAT). Foram determinadas as suas características, isto é, os sólidos secos totais e teor de humidade (na figura 42 e 43 é possível observar os materiais antes e depois de serem colocados na estufa), sólidos voláteis (na figura 44 e 45 é possível observar os cadinhos com os materiais em teste antes e depois de serem colocados na mufla), o teor de carbono, hidrogénio e nitrogénio.

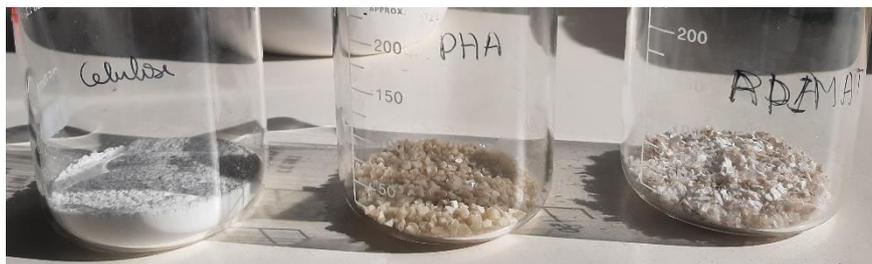


Figura 42 - Materiais em teste antes de serem colocados na estufa, para os ensaios de sólidos secos totais e teor de humidade. Da esquerda para a direita: celulose (material de referência), PHA e PLA (designado por APIMAT).

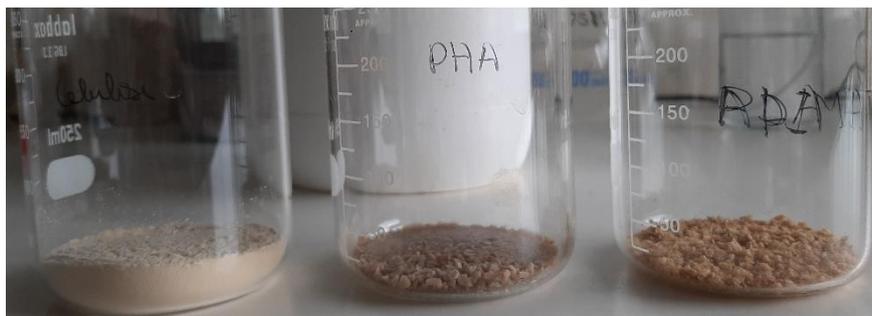


Figura 43 - Materiais em teste depois de serem colocados na estufa, para os ensaios de sólidos secos totais e teor de humidade. Da esquerda para a direita tem-se a celulose (material de referência), o PHA e o PLA (designado por APIMAT).



Figura 44 - Materiais em teste antes de serem colocados na mufia, para os ensaios de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita tem-se o PHA, APIMAT e celulose (material de referência).



Figura 45 - PHA e APIMAT depois de serem colocados na mufia, para os ensaios de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita tem-se o PHA e o APIMAT.

Os resultados obtidos podem ser observados na tabela 8, sendo de destacar que o teor de carbono em todos os materiais é o valor que se apresenta mais elevado em comparação com o teor de hidrogénio e nitrogénio.

Tabela 8 - Características dos materiais em teste utilizados, celulose (material de referência), PHA e APIMAT.

Parâmetro	Celulose	PHA	APIMAT
Sólidos secos totais (%)	97,60	98,71	95,21
Sólidos voláteis (%)	99,90	99,02	80,78

Teor de humidade (%)	2,40	1,29	4,79
Teor de carbono (%)	44,0	56,8	43,9
Teor de nitrogénio (%)	0,0050	0,41	0,12
Teor de hidrogénio (%)	6,15	7,57	5,70

Através dos resultados obtidos na tabela 8 e com a aplicação da equação 5 é possível calcular a quantidade teórica de CO₂ que pode ser produzida por cada material em teste (*ThCO₂*) introduzidos nos frascos de compostagem, sendo esses valores apresentados na tabela 9.

Tabela 9 - Valores de quantidade teórica de dióxido de carbono que pode ser produzido (*ThCO₂*) de cada material em teste.

	Celulose	PHA	APIMAT
<i>ThCO₂</i> (g)	80,68	104,17	80,61

Através da análise da tabela 9, pode-se prever de que o material que irá produzir uma maior quantidade de CO₂ é o PHA, visto que é o que apresenta um valor teórico superior.

3.1.3. Quantidade de dióxido de carbono libertado e percentagem de biodegradação

Foram efetuadas medições com o analisador de carbono durante cerca de 180 dias. Na figura 46 e no anexo 6.1., pode-se observar a quantidade de dióxido de carbono produzido em (grama) com os materiais PHA, APIMAT e celulose e no ensaio em branco. O ensaio em branco, sem material em teste foi o que produziu uma menor quantidade de dióxido de carbono, seguido dos ensaios com APIMAT e celulose. O frasco contendo o PHA foi o que teve uma maior produção de dióxido de carbono, facto que está de acordo com a quantidade teórica de dióxido de carbono (*ThCO₂*), tabela 9, pois o PHA era o material que apresentava o valor mais elevado.

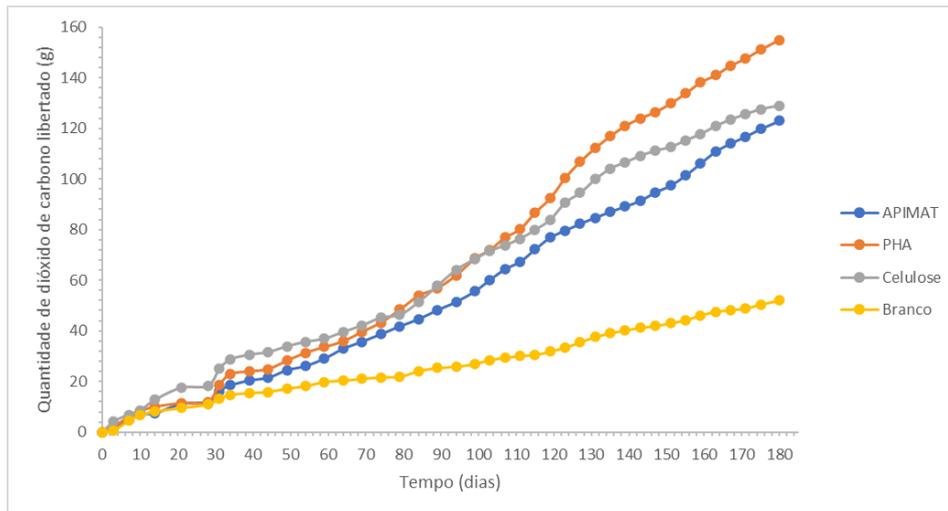


Figura 46 - Quantidade de dióxido de carbono libertado nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia, determinada através da medição com um analisador de carbono, em função do tempo do ensaio.

Através da figura 46 é possível observar que nos primeiros 60 dias a produção de dióxido de carbono nos diferentes frascos foi bastante semelhante e baixa. Por isso, foi efetuada uma aclimação da carga microbiana à temperatura do ensaio. A partir desse dia a produção de dióxido de carbono cresceu substancialmente à exceção do branco, pois é o único frasco que não contém material em teste para ser degradado.

De seguida, são apresentados os gráficos das percentagens de biodegradação dos diferentes materiais em teste em função do tempo do ensaio. As percentagens de biodegradação foram determinadas através da equação 4. Os valores utilizados para traçar os gráficos podem ser consultados no anexo 6.2..

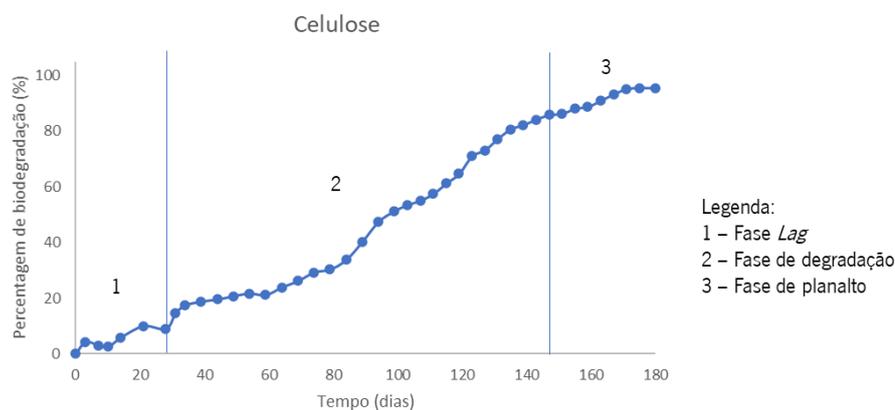


Figura 47 - Percentagem de biodegradação da celulose ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade aeróbia.

Na figura 47 é apresentado o gráfico com a percentagem de biodegradação relativo ao material de referência, a celulose. Este material apresentou uma taxa máxima de biodegradação de 95% e tal

como referido anteriormente, podem ser distinguidas três fases do processo, assinaladas na figura 47. O número 1 corresponde à fase *lag*. Nesta fase ocorre a adaptação dos microrganismos degradantes ao meio envolvente e é atingido cerca de 10% do nível máximo de biodegradação. Esta fase teve a duração de 28 dias. O número 2 corresponde à fase de degradação, que neste caso ocorreu do dia 28 até ao dia 147, tendo a duração de 119 dias, esta fase ocorre até ser atingido 90% do nível máximo de biodegradação. O número 3 corresponde à fase de planalto que ocorreu desde o dia 147 até ao fim do ensaio (dia 180), tendo tido a duração de 33 dias. Segundo a norma ISO o valor final de biodegradação é a média dos valores de biodegradação a partir da fase de planalto, sendo esse valor neste caso de 91%.

Na figura 48 pode ser observado o gráfico com a percentagem de biodegradação do material em teste PHA.

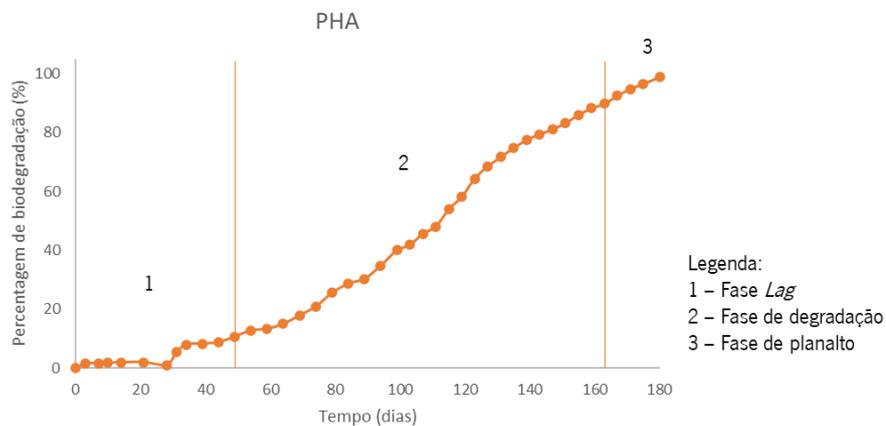


Figura 48 - Percentagem de biodegradação do material em teste, PHA, ao longo do tempo no ensaio de biodegradabilidade aeróbia.

Para o PHA o nível máximo de biodegradação atingido foi de 99%. O número 1 da figura 48 corresponde à fase *lag* que ocorre até a percentagem de biodegradação aumentar cerca de 10% do nível máximo de biodegradação, que neste caso foi no dia 49. O número 2 corresponde à fase de degradação que ocorreu até ao dia 163 onde foi atingido cerca de 90% do nível máximo de biodegradação. Por isso esta fase teve uma duração total de 114 dias. O número 3 corresponde à fase de planalto, tendo esta fase uma duração de 17 dias. A percentagem de biodegradação calculada a partir da média dos valores da percentagem de biodegradação desde o início da fase de planalto é de 95%.

Os resultados relativos ao material em teste APIMAT podem ser observados na figura 49.

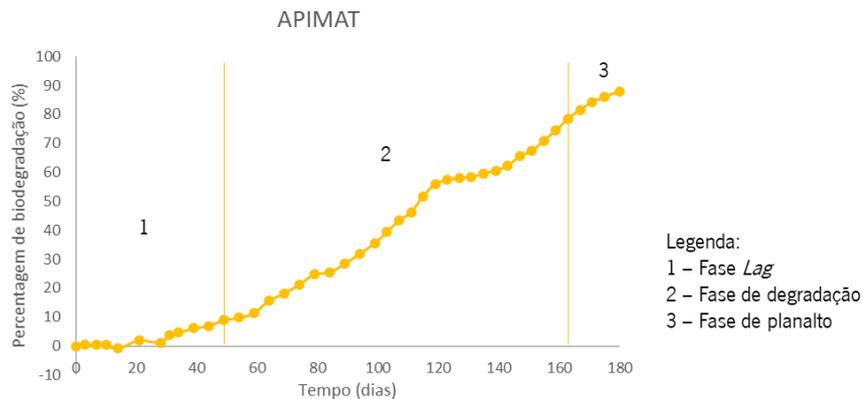


Figura 49 – Percentagem de biodegradação do material em teste, APIMAT, ao longo do tempo no ensaio de biodegradabilidade aeróbia.

No material APIMAT a percentagem máxima de biodegradação foi de 88%. O número 1 da figura 49 corresponde à fase *lag*, ocorre até ao dia 49 onde é atingido 10% do nível máximo de biodegradação. O número 2 corresponde à fase de degradação, teve uma duração de 114 dias, até onde foi atingido 90% do nível máximo de biodegradação. O número 3 corresponde à fase de planalto que ocorre do dia 163 até ao fim do ensaio, o dia 180, tendo assim a duração de 17 dias. A percentagem de biodegradação calculada a partir da média dos valores da percentagem de biodegradação desde o início da fase de planalto é de 84%.

De forma a facilitar a comparação dos resultados da percentagem de biodegradação dos três materiais testados, é feita uma compilação dos resultados na figura 50 e na tabela 10.

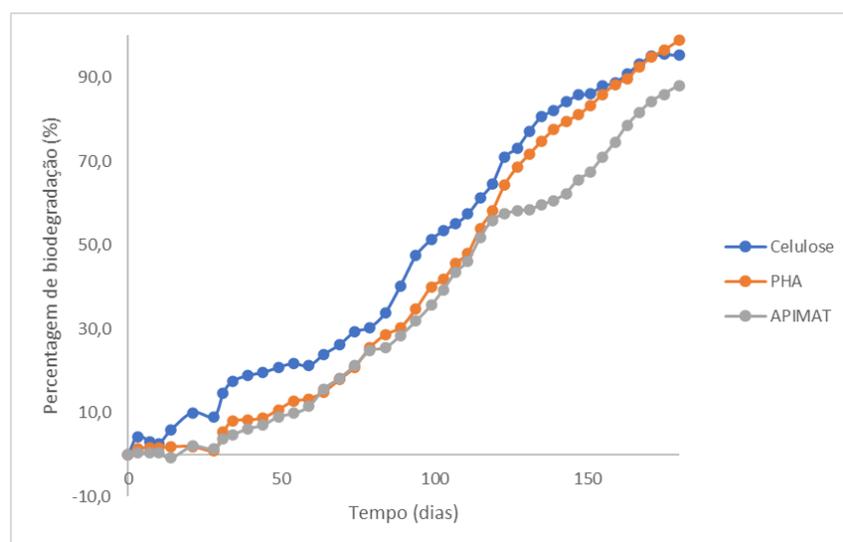


Figura 50 - Percentagem de biodegradação ao longo do tempo para a celulose, o PHA e o APIMAT nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.

Tabela 10 - Duração das fases *lag* e degradação, da quantidade teórica de CO₂ que pode ser produzido, produção total de CO₂ e percentagem máxima de biodegradação para os três materiais, celulose, PHA e APIMAT nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.

Amostra	Duração da fase <i>lag</i> (dias)	Duração da fase de degradação (dias)	ThCO ₂ (g)	Produção total de CO ₂ (g)	Percentagem de biodegradação (%)
Celulose	28	119	80,68	128,99	91
PHA	49	114	104,17	154,99	95
APIMAT	49	114	80,61	123,01	84

A celulose foi o material que apresentou uma fase *lag* mais curta de 28 dias, foi o segundo material com uma produção total de CO₂ e percentagem de biodegradação mais elevada. Isto pode ser explicado devido a ser um polímero natural ocorrendo uma fragmentação quase imediata. Para além disso, microrganismos celulolíticos podem estabelecer relações sinérgicas com espécies não celulolíticas em resíduos celulóticos sendo essas interações responsáveis pela degradação completa da celulose, libertando dióxido de carbono e água [47] [67]. Analisando a figura 50 é possível observar que a celulose foi o material que apresentou percentagens de biodegradação mais elevadas primeiro do que os outros materiais em teste. É mostrado assim que os microrganismos tiveram mais facilidade em se adaptarem à celulose e proceder à sua degradação.

As cadeias poliméricas tendem a ser bastante estáveis, por isso dependem de vários fatores para serem degradadas. No caso do mecanismo de degradação dos PLA's este corre em duas fases. Numa primeira fase ocorre a hidrólise abiótica das ligações éster a uma temperatura elevada (mais de 58 °C). Nesta fase os microrganismos não são envolvidos. É necessário que o peso molecular do polímero diminua para os microrganismos presentes começarem a degradar os oligómeros de ácido láctico de peso molecular inferior em dióxido de carbono e água [47]. Como pode ser observado na tabela 10 a fase *lag* teve uma duração de 49 dias, bastante superior à da celulose, mostrando uma maior dificuldade dos microrganismos para se adaptarem ao novo ambiente e produzirem enzimas capazes de degradarem a cadeia polimérica. Este facto foi também comprovado num estudo efetuado por Iovino e colaboradores [72] que analisaram a biodegradação de PLA e TPS (amido termoplástico) sob condições controladas de compostagem. Estes autores verificaram que o TPS apresentou um nível maior de biodegradação do que o PLA e, como o TPS era um material mais natural foi preferencialmente degradado pela população microbiana, tendo uma fase *lag* mais pequena. Outros fatores que afetam a degradação, são o elevado

tamanho da cadeia polimérica que fica com uma maior estabilidade e empacotamento resultando numa maior resistência à hidrólise [73]. A cristalização é outro fator que afeta a biodegradação, a região amorfa do PLA demonstrou ser menos resistente à degradação do que a parte cristalina, pois a parte cristalina diminui a capacidade de permeação da água. Tal como já foi referido anteriormente ao existirem duas formas estereo-isoméricas de PLA podem ser produzidos vários tipos de PLA e co-polímeros. O PLA com mais de 93% de L(-)-ácido láctico é considerado semi-cristalino e se tiver entre os 53% e 93% o PLA é totalmente amorfo [74] [75]. Num estudo efetuado por Gaurav Kale e colaboradores [76], foi analisada a degradação de duas embalagens de PLA comerciais sob condições de compostagem. Uma das embalagens era composta por 96% de L(-)-ácido láctico, uma estrutura altamente ordenada e com maior cristalinidade, que apresentou uma menor degradação ao contrário da outra embalagem composta por 94% de L(-)-ácido láctico. Num outro estudo efetuado por Rudeekit e colaboradores [75] foram investigadas diferentes condições de compostagem, tendo os autores concluído que o PLA se degrada mais rapidamente a uma temperatura mais elevada (50 a 60 °C) e a uma humidade mais elevada. Isto porque a temperatura de compostagem era superior à temperatura de transição vítrea (temperatura a partir da qual as moléculas da porção amorfa passam a ter mobilidade) do PLA. Isto faz com que haja uma distorção da cadeia possibilitando a penetração da água de modo a ocorrer a hidrólise do polímero. Posto isto, a hidrólise é um fator limitante na biodegradação do PLA, sendo que a hidrólise também está limitada pelas propriedades estruturais e químicas do PLA [67].

Os PHA's são mais facilmente degradados no meio ambiente porque os microrganismos presentes no solo são capazes de excretar PHA despolimerase [47]. Estas enzimas conseguem hidrolisar as ligações éster em monómeros e oligómeros solúveis em água. Consequentemente os microrganismos conseguem utilizar esses produtos como nutrientes. A taxa de degradação enzimática de PHB pelas despolimerases é duas a três vezes mais rápida do que a degradação apenas por hidrólise. A hidrólise enzimática por despolimerases é um processo de erosão que se inicia à superfície. Aí as cadeias poliméricas são degradadas inicialmente por endocisões (aleatoriamente ao longo da cadeia) e depois por exocisões (nas extremidades da cadeia), isto faz com que ocorra o desgaste da superfície e perda de massa. O peso molecular médio e a distribuição molecular não mudam durante a degradação enzimática. Isto porque a degradação apenas ocorre na superfície juntamente com a remoção e dissolução de produtos de degradação de baixo peso molecular do polímero para o ambiente circundante [47] [77]. Porém, a duração das fases *lag* e de degradação na degradação do PHA foi semelhante à do APIMAT indicando que os microrganismos encontraram na mesma alguma dificuldade na adaptação à degradação deste polímero. Tal como no caso dos PLA's, a degradação dos PHA's depende de vários

fatores como a massa molecular, composição do co-polímero, mobilidade da cadeia, balanço hidrofílico/hidrofóbico [47]. Normalmente, uma degradação mais lenta está associada à elevada cristalinidade do polímero e a um elevado ponto de fusão. Num estudo efetuado por Yun-Xuan Weng [78] e colaboradores, foi avaliada a influência da estrutura química na biodegradabilidade de PHA's. Para tal foram utilizados 6 tipos de PHA's, polihidroxibutirato (PHB), polihidroxibutirato-co-hidroxivalerato (PHBV) um com 40% moles de hidroxivalerato (PHBV-40), outro com 20% moles de hidroxivalerato (PHBV-20) e outro com 3% moles de hidroxivalerato (PHBV-3) e poli-3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato [P(3HB,4HB)] com 10% moles de 4-hidroxibutirato em condições controladas de compostagem. Os autores concluíram que a ordem de biodegradação foi PHBV-40 > P(3HB,4HB) > PHBV-20 > PHBV-3 > PHB, devido à cristalinidade do co-polímero que diminuía com o aumento do conteúdo de hidroxivalerato e 4-hidroxibutirato. Os mesmos autores concluíram que as partes amorfas degradaram-se mais rapidamente do que a parte cristalina. Estes autores concluíram também que a estrutura química dos PHA's não mudava, a estabilidade térmica e o peso molecular é que diminuía durante a compostagem. Para além disso, a biodegradação dos PHA's ocorreu através de erosão por catalisação enzimática da superfície para o interior do polímero. Como referido anteriormente, apesar do PHA e do APIMAT apresentarem uma fase de degradação semelhante, o PHA possui um mecanismo de biodegradação mais fácil atingindo uma percentagem de biodegradação final 7% mais elevada do que o APIMAT.

Em suma, a quantidade de dióxido de carbono produzido foi maior para o PHA, tal como o previsto pois era o material que tinha uma maior quantidade de dióxido de carbono teórica que podia ser produzido, sendo também o material que apresenta uma percentagem de biodegradabilidade maior. Para o APIMAT e a celulose foram obtidos valores da quantidade dióxido de carbono libertado próximos e de quantidade teórica de dióxido de carbono que podia ser produzido. Apesar disso, a celulose apresentou uma maior percentagem de biodegradação, demonstrando mais uma vez uma maior dificuldade na biodegradação de PLA's.

3.1.4. Determinação do dióxido de carbono libertado através da titulação potenciométrica

Para além da análise do dióxido de carbono libertado através do analisador de carbono foi também testado o método de análise através da titulação potenciométrica, tentando tornar o processo de análise mais rápido e menos dispendioso. Foram efetuadas medições durante de cerca de 120 dias e os valores de CO₂ produzido nesses dias são apresentados na figura 51 e no anexo 6.3.. Analisando a

figura 51 é possível verificar que a quantidade máxima de dióxido de carbono produzido foi cerca de 3 g. Tal como o previsto, o PHA foi o material que produziu a maior quantidade de dióxido de carbono.

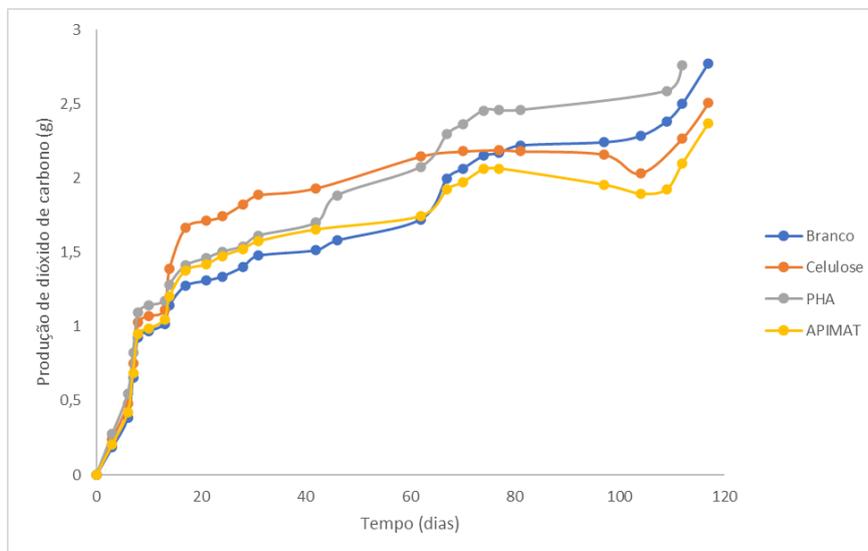


Figura 51 - Massa de dióxido de carbono libertado nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia, determinada através do método de titulação potenciométrica, em função do tempo do ensaio.

Os resultados obtidos indicam que o método de titulação potenciométrica (figura 51) apresentou pouca sensibilidade como pode ser visto quando se comparam estes resultados com os obtidos através da utilização do analisador de carbono (figura 46). Este método envolve a titulação do hidróxido de bário restante no final do processo, porém como é uma incubação estática o carbonato de bário pode solidificar na superfície do líquido. Para que isto não aconteça, os frascos onde se realizavam os ensaios teriam de apresentar uma agitação constante, de modo a garantir a continuidade da absorção do dióxido de carbono pela solução. Este problema poderia ser ultrapassado utilizando hidróxido de potássio, pois este não precipita [79]. A medição utilizando o analisador de carbono não é dependente do restante hidróxido de bário que fica em solução, pois a medição é efetuada através da análise do carbono inorgânico na forma de carbonato de bário. Num estudo efetuado por Oana Cadar e colaboradores [49], foi avaliada a biodegradabilidade de ácido polilático, etileno glicol, ácido malónico e ácido succínico e seus co-polímeros em condições controladas de compostagem. Para a medição do dióxido de carbono libertado foi utilizado um analisador de carbono e a titulação através de hidróxido de bário. Estes autores concluíram que o método de análise através do analisador de carbono fornecia valores mais elevados sendo este método mais conveniente e efetivo para a avaliação da degradação dos polímeros.

3.1.5. Determinação da perda de massa da matéria orgânica dos materiais em teste

A ISO 14855:2012 fornece um procedimento de cálculo para determinar a perda de massa de matéria orgânica nos materiais em teste durante o ensaio de compostagem aeróbia. Esta medição constitui uma informação adicional. Na secção 2.1.9.. é apresentado em detalhe o procedimento deste cálculo, isto é, o cálculo da perda de massa a partir da medição dos sólidos voláteis do inóculo e dos materiais em teste no início e no fim do ensaio.

Nesta determinação foram utilizados vários dados entre eles a massa da mistura que ficou nos frascos, assim como os sólidos secos, sólidos voláteis e teor de humidade no fim do ensaio. O conteúdo dos frascos no fim do ensaio de biodegradabilidade aeróbia pode ser observado na figura 52, tendo-se procedido à sua pesagem.



Figura 52 - Conteúdo dos frascos no fim do ensaio de biodegradabilidade aeróbia, da esquerda para a direita, encontra-se o branco, a celulose, o PHA e o APIMAT.

Na figura 53 estão apresentados os copos com o conteúdo dos frascos após terem estado na estufa durante 18 horas a 105 °C. Estes foram utilizados para o cálculo dos sólidos secos totais e teor de humidade.



Figura 53 - Copos com o conteúdo dos frascos após estarem na estufa, para a determinação dos ensaios de sólidos secos totais e teor de humidade. Da esquerda para a direita, encontra-se o APIMAT, o branco, a celulose e o PHA.

Na figura 54 podem-se observar os cadinhos com o conteúdo dos frascos depois de estarem na mufla a 550 °C durante 2 horas de modo a serem calculados os sólidos voláteis.



Figura 54 - Cadinhos com o conteúdo dos frascos após estarem na mufla para a determinação de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita encontra-se o APIMAT, o branco, a celulose e o PHA.

Na tabela 11 encontram-se os valores da massa do conteúdo dos frascos no fim do ensaio, bem como o teor de humidade, de sólidos voláteis e de sólidos secos totais.

Tabela 11 - Massa do conteúdo dos frascos, teor de humidade, sólidos voláteis e sólidos secos totais no fim dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.

Parâmetro	Branco	Celulose	PHA	APIMAT
Massa do conteúdo do frasco (g)	246,11	232,94	230,02	255,90
Sólidos Secos Totais (%)	97,98	98,00	98,44	98,19
Sólidos Voláteis (%)	46,13	53,41	51,86	49,01
Teor de humidade (%)	2,03	2,00	1,56	1,81

A partir dos valores da tabela 11 e da equação 27 foi calculada a percentagem de perda de massa dos materiais em teste, isto é, a percentagem do grau de biodegradação calculada a partir da perda em sólidos voláteis, sendo essas percentagens apresentadas na tabela 12.

Tabela 12 - Percentagem de biodegradação obtidos através do método da perda de massa nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia.

Método	Percentagem de biodegradação da celulose (%)	Percentagem de biodegradação do PHA (%)	Percentagem de biodegradação do APIMAT (%)
Perda de massa	87	59	67

A partir dos dados da tabela 12 é possível concluir que existiu biodegradação dos materiais, tal como foi observado pelo método do dióxido de carbono libertado. No entanto, os valores de percentagem de biodegradação determinados através da perda de massa são menores do que os obtidos pela análise do dióxido de carbono libertado. A medição pelo método da perda de massa tem alguns problemas associados, como é uma medição baseada em valores obtidos no início e fim do ensaio é difícil ter em conta a mudança de parâmetros durante o ensaio, como por exemplo a humidade. Durante o ensaio foi adicionada água aos frascos e esse facto pode ter influenciado os valores finais obtidos em termos de sólidos secos totais e teor de humidade. Este problema e outros foram reportados na literatura, como por exemplo a perda de humidade e sólidos voláteis durante o ensaio e a dificuldade de obtenção de amostras que sejam representativas e homogéneas [80].

3.1.6. Validação dos resultados

Segundo a norma ISO 14855:2012 para os resultados serem válidos têm de ser respeitados três critérios que são:

- A percentagem de biodegradação do material de referência tem de ser maior do que 70% após 45 dias do início do ensaio;
- A diferença entre a percentagem de biodegradação do material de referência e a dos restantes frascos deve ser inferior a 20%;
- O inóculo no frasco em branco produz mais de 50 mg de dióxido de carbono por g de sólidos voláteis, mas menos de 150 mg depois de 10 dias de incubação.

Nos ensaios realizados, 45 dias após o ensaio se ter iniciado, a percentagem de biodegradação da celulose era de apenas 19,5%. Nos primeiros 60 dias do ensaio verificou-se que os valores de libertação de dióxido de carbono eram baixos e bastante semelhantes em todos os frascos, por isso procedeu-se à aclimação da carga microbiana. A partir desse dia observou-se um aumento da percentagem de

biodegradação. Sendo assim, nestes ensaios não se verificou o cumprimento do primeiro critério da norma.

Relativamente ao segundo critério, a diferença entre a percentagem de biodegradação dos diferentes frascos e o frasco da celulose, verificou-se que a diferença entre a percentagem do PHA e da celulose foi de apenas 4% e entre o da celulose e do APIMAT foi de 7%. Posto isto, verificou-se o cumprimento deste critério da norma.

Por último, o inóculo no frasco em branco produziu 58 mg de dióxido de carbono por g de sólidos voláteis nos primeiros 10 dias do ensaio, estando contido no intervalo definido de 50 a 150 mg de dióxido de carbono por g de sólidos voláteis. Sendo assim, este critério da norma também é cumprido.

Apesar do primeiro critério da norma não ter sido cumprido, pode-se afirmar que o ensaio teve sucesso na medida em que depois de ultrapassado o problema com a aclimatação, observou-se a degradação dos polímeros PHA e APIMAT em teste.

3.2. Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia e alto teor de sólidos (ISO 15985:2014)

3.2.1. Caracterização do inóculo

Para o desenvolvimento do ensaio foram determinadas as características do inóculo. Estas estão apresentadas na tabela 13 assim como os valores recomendados pela norma ISO 15985:2014.

Tabela 13 - Características do inóculo utilizado nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia e valores recomendados pela ISO 15985:2014.

Parâmetro	ISO 15985:2014	Inóculo
Sólidos secos totais (%)	> 20	2,050
Sólidos Voláteis (%)	-	97,99
Teor de humidade (%)	-	97,95
pH	7,5 – 8,5	8,1

Analisando os resultados obtidos (tabela 13) verifica-se que o valor dos sólidos secos totais é mais baixo do que é recomendado pela ISO 15985:2014. Este facto pode ser explicado devido ao inóculo ser bastante heterogéneo sendo difícil retirar uma amostra representativa. O valor de pH do inóculo encontra-se dentro do intervalo definido pela norma ISO.

3.2.2. Quantidade de carbono nos materiais em teste introduzida nos frascos

Os materiais em teste utilizados como já foi referido, foram os mesmos do que nos ensaios da norma ISO 14855:2012, sendo assim as suas características já foram determinadas e encontram-se na tabela 8. A partir dessa tabela e da quantidade de material teste introduzida nos frascos (tabela 6) foi calculada a quantidade de carbono dos materiais em teste introduzidos nos frascos, sendo esses valores apresentados na tabela 14.

Tabela 14 - Quantidade de carbono no material teste colocado no frasco no início dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

	Celulose	PHA	APIMAT
Quantidade de carbono no material teste colocado no frasco no início do ensaio (g)	9,23	11,56	11,37

As quantidades de carbono nos materiais em teste colocados nos frascos eram semelhantes para o PHA e APIMAT, possuindo a celulose um valor inferior. Estes valores de carbono foram depois utilizados para calcular a percentagem de biodegradabilidade.

3.2.3. Quantidade de biogás libertado

Foi medida a quantidade de biogás libertado nos frascos em branco, da celulose, do PHA e do APIMAT. O ensaio teve a duração de 90 dias e os dados obtidos estão apresentados no anexo 6.4. e na figura 55. Nesta figura é possível observar que no frasco em branco, sem nenhum material a ser degradado, a quantidade de biogás libertado foi muito reduzida.

Analisando a curva correspondente à quantidade de biogás produzida para o ensaio com a celulose (figura 55) verifica-se que esta apresenta até ao dia 5 um volume muito elevado de biogás libertado que tende a estabilizar do dia 5 ao dia 12. A partir do dia 12 há novamente um aumento do volume de biogás produzido, esta variação pode ser consequência da adaptação dos microrganismos à temperatura. Antes de ser iniciado o ensaio o inóculo com os microrganismos estava à temperatura ambiente (cerca de 25 °C) e depois essa temperatura passou para 52 ± 2 °C levando a que a população microbiana se tenha de adaptar a esta nova condição.

A curva correspondente no ensaio com PHA também mostra que houve uma adaptação de temperatura que diferiu na quantidade de biogás libertado e na duração dessa adaptação. No frasco com PHA houve uma grande libertação de biogás até ao dia 9 que depois tendeu a estabilizar até ao dia 19. Do dia 19 ao dia 26 voltou a haver uma grande quantidade de biogás libertado que depois teve uma tendência de estabilização até ao dia 55. Do dia 55 até ao dia 68 verificou-se novamente um grande aumento da libertação de biogás que depois tendeu a estabilizar até ao fim do ensaio. Este último aumento de libertação de biogás pode estar relacionado com a temperatura que se manteve o ensaio,

isto é, a partir do dia 56 a temperatura do ensaio manteve-se nos $41 \pm 2^\circ\text{C}$, levando a que os microrganismos se tivessem de adaptar a esta nova condição.

Relativamente ao ensaio com APIMAT verifica-se que o volume de biogás produzido é bastante inferior aos ensaios com os outros dois materiais. Analisando a variação do volume de biogás produzido em função do tempo verifica-se que esta adaptação dos microrganismos não foi tão evidente no início do ensaio, mas é de realçar que a partir do dia 30 houve um aumento mais significativo de libertação de biogás que estabilizou a partir do dia 75.

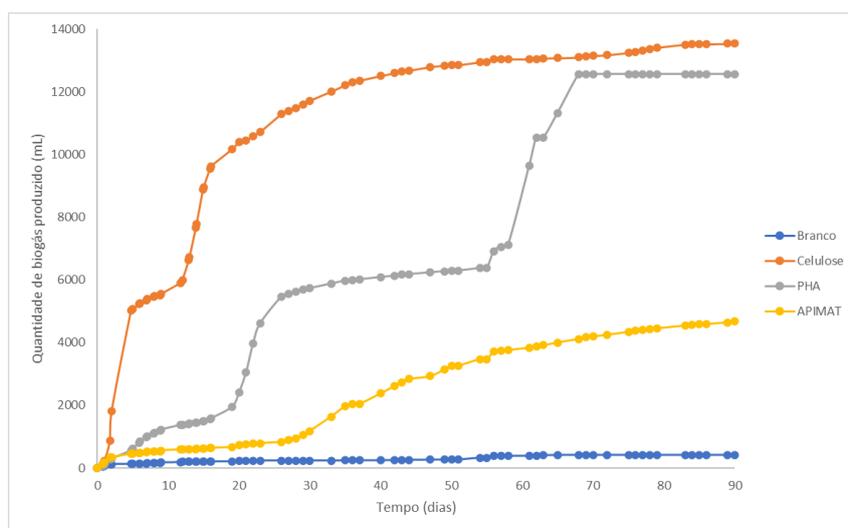


Figura 55 – Quantidade de biogás libertado em função da duração do ensaio, nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

Na tabela 15 são apresentados os valores de quantidade de biogás libertado no frasco em branco, da celulose, do PHA e do APIMAT. O frasco em que se observou um volume de produção de biogás maior foi o da celulose, seguido do PHA e APIMAT. O volume de biogás produzido pelo branco foi bastante inferior aos frascos que continham material em teste a ser degradado (celulose, PHA e APIMAT).

Tabela 15 - Quantidade de biogás libertado no frasco em branco e com os materiais em teste para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

	Branco	Celulose	PHA	APIMAT
Quantidade de biogás libertado (mL)	423,15	13549,15	12565,24	4673,68

Para além destes factos, é importante destacar que um dos problemas deste ensaio foi a manutenção da temperatura de acordo com o indicado na norma ISO. A partir do dia 54 a temperatura do ensaio foi 10°C inferior ao que era indicado na norma ISO ($52 \pm 2^\circ\text{C}$). Outro problema está

relacionado com o método de medição, o líquido de enchimento do *MilliGascounter*, o *silox*, por vezes saía do involucro devido à pressão criada, e os tubos que conectavam o *MilliGascounter* com os frascos enchiam-se de água ou *silox*, obrigando a que periodicamente tivessem de ser removidos dos tubos.

3.2.4. Percentagem de biodegradação

Foram determinadas as percentagens de biodegradação ao longo do tempo dos 3 materiais, celulose, PHA, APIMAT. Os resultados obtidos estão apresentados no anexo 6.5..

Na figura 56 é possível observar a curva de biodegradação da celulose, o material de referência.

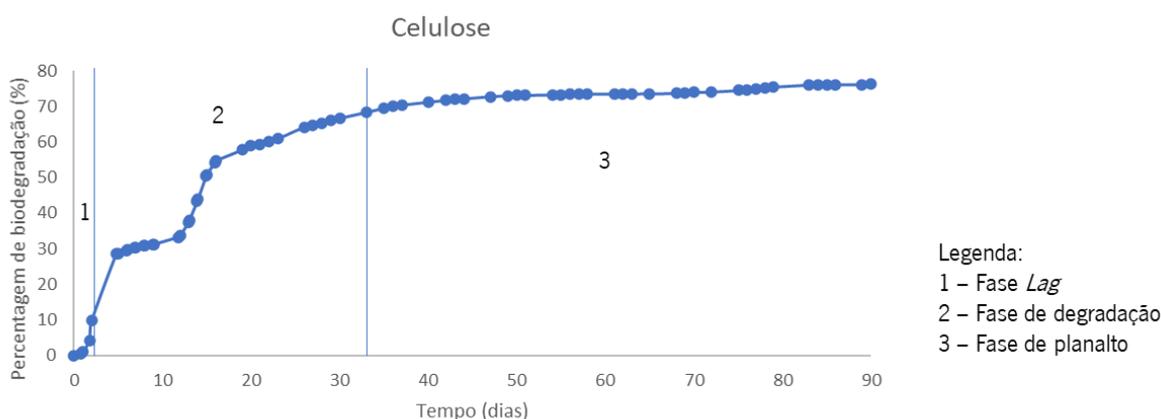


Figura 56 - Percentagem de biodegradação do material de referência, a celulose ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade anaeróbia.

A taxa de biodegradação máxima da celulose foi de 76,2% e na figura 56 é possível distinguir as 3 fases. O número 1 corresponde à fase *lag*, que é medida desde o início do ensaio até à adaptação/seleção dos microrganismos degradantes e é atingido 10% do nível máximo de biodegradação. Esta fase teve a duração de cerca de 2 dias. O número 2 indica a fase de degradação medida desde o fim da fase *lag* até que 90% do nível máximo de biodegradação seja atingido. Esta fase teve a duração de 31 dias, ocorreu desde o dia 2 até ao dia 33. O número 3 corresponde à fase de planalto medida desde o fim da fase de degradação até ao fim do teste. Esta fase teve a duração de 57 dias. Segundo a norma ISO o valor final de biodegradação é a média dos valores de biodegradação a partir da fase de planalto, sendo esse valor neste caso de 75%.

Na figura 57 pode ser observada a variação da percentagem de biodegradação do material em teste, PHA ao longo do tempo.

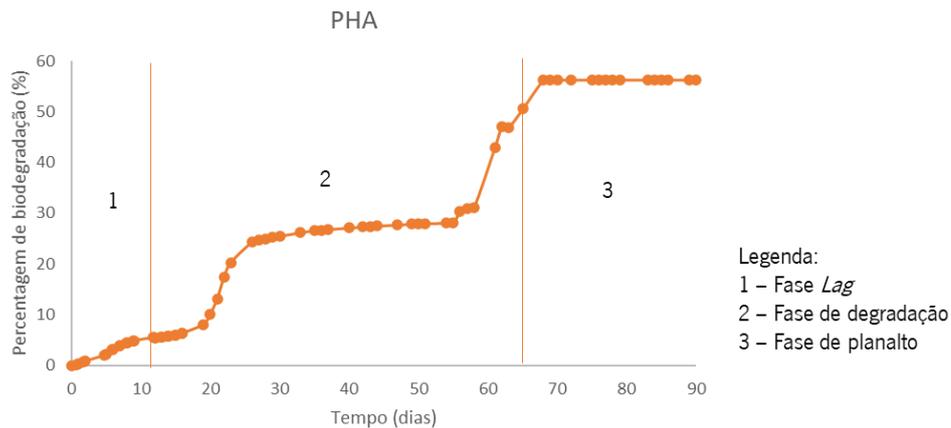


Figura 57 - Percentagem de biodegradação do material em teste PHA, ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade anaeróbica

No caso do PHA o nível máximo de biodegradação atingido foi de 56,3%. O número 1 da figura 57 corresponde à fase *lag* que ocorre até a percentagem de biodegradabilidade aumentar cerca de 10% do nível máximo de biodegradação, que neste caso ocorreu até ao dia 12. O número 2 corresponde à fase de degradação que ocorreu até ao dia 65 onde foi atingido cerca de 90% do nível máximo de biodegradação, esta fase teve a duração total de 53 dias. O número 3 corresponde à fase de planalto tendo esta fase uma duração de 25 dias. A percentagem final de biodegradação calculada a partir da média dos valores da percentagem de biodegradabilidade desde o início da fase de planalto, é de 56%.

Os resultados relativos à percentagem de biodegradação para o material em teste APIMAT podem ser observados na figura 58.

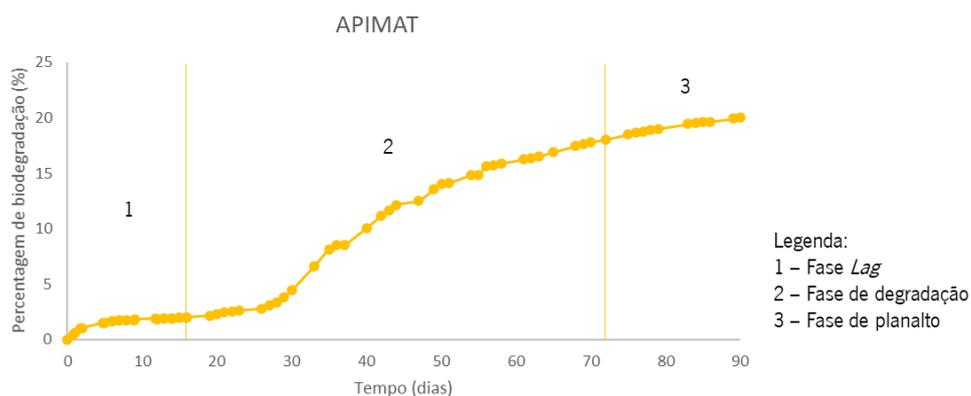


Figura 58 - Percentagem de biodegradação do material em teste APIMAT, ao longo do tempo, no ensaio de biodegradabilidade anaeróbica.

Para o material APIMAT a percentagem máxima de biodegradação foi de 20%. O número 1 da figura 58 corresponde à fase *lag* que ocorre até ao dia 16, fase onde é atingido 10% do nível máximo de biodegradação. O número 2 corresponde à fase de degradação, teve uma duração de 56 dias, até onde foi atingido 90% do nível máximo de biodegradação. O número 3 corresponde à fase de planalto que ocorre desde o dia 72 até o fim do ensaio, o dia 90, tendo assim a duração de 18 dias. A percentagem final de biodegradação calculada a partir da média dos valores da percentagem de biodegradabilidade desde o início da fase de planalto é de 19%.

De modo a ser mais fácil a comparação dos resultados da percentagem de biodegradação dos três materiais testados, é feita uma compilação dos resultados na figura 59 e na tabela 16.

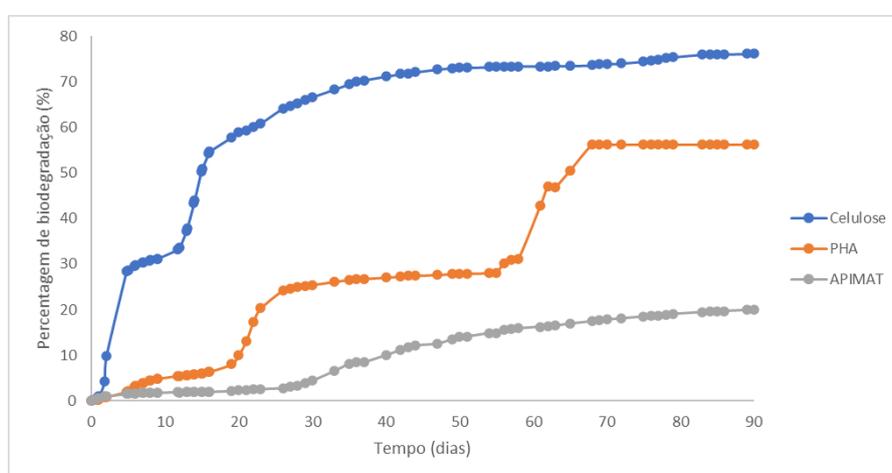


Figura 59 - Percentagem de biodegradação ao longo do tempo para a celulose, PHA e APIMAT, nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

Tabela 16 - Duração da fase *lag*, fase de degradação e percentagem máxima de biodegradação para os três materiais, celulose, PHA e APIMAT, nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

Amostra	Duração da fase <i>lag</i> (dias)	Duração da fase de degradação (dias)	Percentagem de biodegradação (%)
Celulose	2	31	75
PHA	12	53	56
APIMAT	16	56	19

A celulose é o material que apresenta a fase *lag* mais curta comparativamente aos restantes dois materiais. Isto indica que a adaptação dos microrganismos degradantes foi muito mais fácil para a

celulose, sendo que foi também este material que apresentou uma percentagem de biodegradação mais elevada.

Relativamente ao PHA, este material apresentou uma curva da variação da percentagem de biodegradação com o tempo bastante diferente dos restantes materiais, na medida em que existe um grande crescimento da percentagem de biodegradação duas vezes durante os 90 dias, ao contrário da celulose e do APIMAT em que isso apenas acontece uma vez. Na literatura, é bastante escassa a informação relativa à digestão anaeróbia dos PHA's, um artigo de revisão de Emadian e colaboradores [81] mostrou que os vários estudos existentes se focam nos restantes tipos de tratamento biológico como a compostagem e a biodegradação no solo. Assim, é necessária uma investigação maior relativa às melhores condições de degradação de PHA's em condições anaeróbias, sendo esta também uma conclusão apresentada por Hegde e colaboradores [82].

Dos materiais estudados, o APIMAT foi o que apresentou uma fase *lag* maior e uma menor percentagem de biodegradação evidenciando uma maior dificuldade de adaptação dos microrganismos. Na literatura existem evidências de que a biodegradação da celulose e dos PLA's em inóculos com alta ou baixa atividade é diferente. Isto é, a celulose consegue ser bastante degradada quer em inóculos com alta atividade, quer em inóculos com baixa atividade, ao contrário dos PLA's que em inóculos com baixa atividade têm uma degradação mais baixa [83]. Este facto pode ser explicado porque os microrganismos responsáveis pela degradação da celulose e dos PLA's são diferentes e, os microrganismos responsáveis pela degradação dos PLA's são sensíveis à baixa atividade do inóculo [84]. Outro facto está relacionado com a temperatura, num estudo efetuado por Itavaara e colaboradores [85] em que foram efetuados ensaios em condições de temperatura diferente, os autores concluíram que utilizando uma temperatura mais elevada o PLA era mais rapidamente degradado e a percentagem de biodegradação era mais elevada.

É possível concluir que a degradação do PHA e do APIMAT foi baixa, a percentagem de biodegradação do PHA pouco ultrapassou os 50% e a do APIMAT situou-se apenas nos 20%. Estes valores de degradação são muito mais baixos quando comparados com os do ensaio de biodegradabilidade aeróbia. Porém, não seria de descartar a hipótese de repetir este ensaio pois ao longo da sua execução existiram alguns problemas, nomeadamente com a manutenção da temperatura constante.

3.2.5. Determinação da percentagem de perda de massa

A norma ISO 15985:2014 fornece um procedimento de cálculo para determinar a percentagem de perda de massa dos materiais em teste com base no conteúdo dos sólidos voláteis. As fórmulas utilizadas neste cálculo são apresentadas na secção 2.2.4.. Para esta determinação foram utilizados diferentes dados experimentais entre eles os sólidos secos totais, os sólidos voláteis, o teor de humidade dos materiais em teste e do inóculo no início do ensaio e, do conteúdo dos frascos no fim do ensaio.

Na figura 60 pode ser observado o aspeto do conteúdo dos frascos no fim do ensaio, que foram pesados estando indicado na tabela 17 o valor da massa do conteúdo de cada frasco.



Figura 60 - Frascos no fim dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia, da esquerda para a direita, encontra-se o branco, a celulose, o PHA e o APIMAT.

Na figura 61 encontram-se os copos com o conteúdo dos frascos antes de estarem na estufa. E na figura 62 estão os copos com o conteúdo dos frascos após estarem na estufa durante 18 horas a 105 °C. Com base nos valores das massas antes e depois do ensaio foram calculados os sólidos secos totais e o teor de humidade, sendo esses valores apresentados na tabela 17.

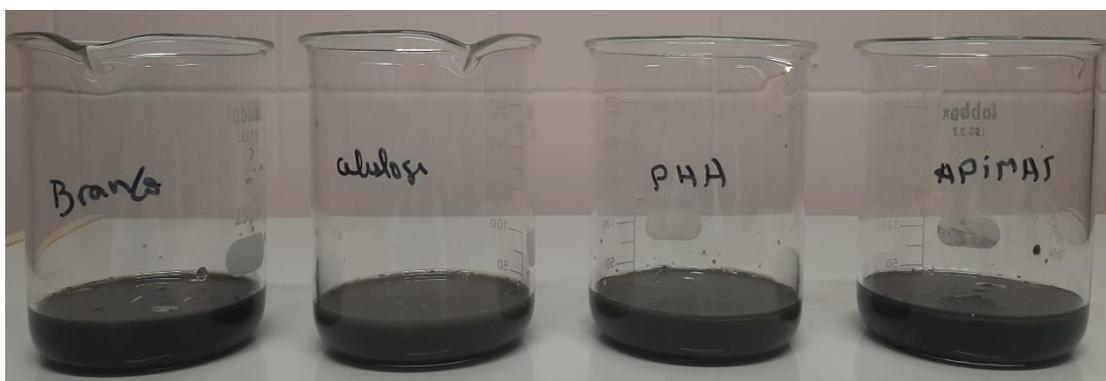


Figura 61 - Copos com o conteúdo dos frascos antes de estarem na estufa, para a determinação dos sólidos secos totais e do teor de humidade. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.



Figura 62 - Copos com o conteúdo dos frascos depois de estarem na estufa, para a determinação dos sólidos secos totais e do teor de humidade. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.

Na figura 63 pode-se observar os cadinhos com o conteúdo dos frascos antes de estarem na mufla. E na figura 64 os cadinhos com o conteúdo dos frascos após estarem na mufla a 550 °C durante 2 horas. Com base nestes valores calcularam-se os sólidos voláteis. Esses valores estão apresentados na tabela 17.



Figura 63 - Cadinhos com o conteúdo dos frascos antes de estarem na mufla para a determinação de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.



Figura 64 - Cadinhos com o conteúdo dos frascos depois de estarem na mufla para a determinação de sólidos voláteis. Da esquerda para a direita, encontra-se o branco, celulose, PHA e APIMAT.

Tabela 17 - Massa do conteúdo dos frascos, teor de humidade, sólidos voláteis e sólidos secos totais no fim dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.

Parâmetro	Branco	Celulose	PHA	APIMAT
Massa do conteúdo do frasco no fim do ensaio (g)	718,53	664,07	710,63	687,40
Sólidos Secos totais (%)	1,62	1,54	2,05	3,07
Sólidos Voláteis (%)	99,07	98,99	98,80	98,58
Teor de humidade (%)	98,38	98,46	97,95	96,93

Como já foi referido anteriormente, o líquido de enchimento do *MilliGascounter*, o *silox*, por vezes saía do involucro e entrava nos frascos com o inóculo e materiais em teste. Devido a esta interferência do *silox* a determinação da percentagem de perda de massa dos materiais em teste com base no conteúdo dos sólidos voláteis foi impossível de se realizar.

3.2.6. Validação dos resultados

Segundo a norma ISO 15985:2014 para os resultados sejam válidos têm de ser respeitados dois critérios:

- A percentagem de biodegradação do material de referência tem de ser superior a 70% após 15 dias do início do ensaio;
- A diferença entre a percentagem de biodegradação do material de referência e os restantes frascos é inferior a 20%.

No décimo quinto dia do ensaio a percentagem de degradação da celulose era de apenas 50%. A celulose só atingiu 70% de degradação no dia 36, mais do que o dobro dos dias requeridos para o ensaio ser válido. Sendo assim, não se verificou o cumprimento deste critério da norma.

Relativamente à diferença entre a percentagem de biodegradação dos diferentes frascos e a celulose, a diferença entre a percentagem para o PHA e a celulose foi de 19% e entre a da celulose e do APIMAT foi de 56%, valores muito superiores à diferença requerida na Norma. Posto isto, não se verificou o cumprimento deste parâmetro.

Sendo assim, segundo os critérios aqui apresentados o ensaio não se encontra validado.

Capítulo 4 - Conclusões

O objetivo do presente trabalho era a avaliação da biodegradabilidade de cápsulas de café constituídas por polímeros biodegradáveis. Os polímeros biodegradáveis testados foram o PHA e o APIMAT (PLA). Foi avaliada a sua biodegradabilidade segundo duas normas, a ISO 14855:2012 – Determinação da biodegradabilidade aeróbia final de materiais plásticos sob condições controladas de compostagem – Método da análise do dióxido de carbono libertado e a ISO 15985:2014 - Determinação da biodegradabilidade anaeróbia final sob condições de digestão anaeróbia de alto teor de sólidos – Método de análise do biogás libertado.

Com a aplicação da norma ISO 14855:2012 utilizando o método de titulação potenciométrica foi possível concluir que os resultados obtidos apresentavam uma baixa sensibilidade. Através dos resultados obtidos com o analisador de carbono foi então calculada a quantidade de dióxido de carbono libertado e a percentagem de biodegradação. Dos dois materiais em teste, o PHA foi o que apresentou uma maior quantidade de dióxido de carbono libertado tal como foi previsto pela quantidade teórica que poderia ser libertada ($ThCO_2$). O PHA apresentou uma maior percentagem de biodegradação (95%) e o APIMAT apresentou uma percentagem de 84%. O ensaio foi concluído com sucesso e por isso com a apresentação destes valores de biodegradação pode-se concluir que estes polímeros são considerados biodegradáveis segundo a norma ISO 14855:2012.

A aplicação da norma ISO 15985:2014 revelou alguns problemas, nomeadamente com a manutenção da temperatura requerida. Dos dois materiais em teste, o PHA apresentou uma maior libertação de biogás e uma maior percentagem de biodegradação (56%) em comparação com o outro material em teste, o APIMAT (19%). Este ensaio não cumpriu nenhum dos critérios necessários para a sua validação, porém é de realçar que os materiais apresentaram potencial para serem bio-degradados, por isso não seria de descartar uma repetição deste ensaio com os mesmos materiais.

Em termos comparativos é possível concluir que a norma ISO 14855:2012 permite avaliar a biodegradabilidade dos biopolímeros em estudo, de forma mais eficiente, e com menos interferências (como o *silox*, que devido à pressão criada entrou nos frascos do ensaio com o inóculo e materiais em teste, e manutenção da temperatura requerida pela norma). Comparativamente com o ensaio em condições aeróbias, é possível observar que nos ensaios em condições anaeróbias foram obtidas percentagens máximas de biodegradabilidade mais reduzidas. No entanto, importa salientar que estes ensaios tiveram metade da duração dos ensaios em condições aeróbias. Do ponto de vista económico, é possível destacar outro ponto positivo, pois ao longo dos ensaios anaeróbios foi obtida e registada a formação de uma elevada quantidade de biogás, que poderia ser valorizada para a produção de energia.

Por isso, recomenda-se para futuros ensaios, a extensão do tempo de operação dos ensaios realizados de acordo com a norma ISO 15985:2014.

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram também concluir que, tanto o PHA como o APIMAT, apresentam um grande potencial para integrarem cápsulas de café biodegradáveis, visto que estes materiais apresentam altas percentagem de biodegradação em compostagem aeróbia segundo a norma ISO 14855:2012, tendo assim uma alternativa de deposição e valorização em comparação com os plásticos convencionais.

Capítulo 5 - Bibliografía

- [1] Centro para a Valorização de Resíduos – Sobre o CVR, <https://www.cvresiduos.pt/pt/cvr/sobre-o-cvr>. Acedido em 5 de dezembro, 2020.
- [2] Centro para a valorização de resíduos – Mensagem da Presidente, <https://www.cvresiduos.pt/pt/cvr/mensagem-da-presidente>. Acedido em 5 de dezembro, 2020.
- [3] Revista digital 2 – CVR, https://www.cvresiduos.pt/fileManager/ficheiros/file_pt_9.pdf. Acedido em 5 de dezembro, 2020.
- [4] Li, W. C., Tse, H. F., Fok, L. “Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects”, *Science of The Total Environment*, 566–567, 333–349, 2016.
- [5] Rodriguez, F., Cohen, C., Ober, C. K., Archer, L. A. “Principles of polymer systems”, New York, Taylor & Francis Group, 1-22, 2015, ISBN:13: 978-1-4822-2379-8.
- [6] Plastics Europe, How plastics are made, <https://www.plasticseurope.org/en/about-plastics/what-are-plastics/how-plastics-are-made>. Acedido em 24 de novembro, 2020.
- [7] Gilbert, M. “Plastics Materials: Introduction and historical development”, *Brydson’s Plastic Materials*, 18, 2–18, 2016.
- [8] Andrady, A. L., Neal, M. A. “Applications and societal benefits of plastics”, *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, 364, 1526, 1977–1984, 2009.
- [9] Thompson, R. C., Moore, C. J., Saal, F. S. V., Swan, S. H. “Plastics, the environment and human health: Current consensus and future trends”, *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, 364, 1526, 2153–2166, 2009.
- [10] Plastics Europe, “Plastics - the Facts 2019”, <https://www.plasticseurope.org/en/resources/market-data>. Acedido em 24 de novembro, 2020.
- [11] Kedzierski, M., Frère, D., Maguer, G. Le, Bruzard, S. “Why is there plastic packaging in the natural environment? Understanding the roots of our individual plastic waste management behaviours”, *Science Total Environment*, 740, 1-9, 2020.
- [12] Xu, C., Zhang, B., Gu, C., Shen, C., Yin, S., Amir, M., Li, F. “Are we underestimating the sources of microplastic pollution in terrestrial environment?”, *Journal of Hazardous Materials*, 400, 1-12, 2020.

- [13] Plastics Europe, “Plastics – the Facts 2013: An analysis of European latest plastics production, demand and waste data”, https://www.plasticseurope.org/application/files/7815/1689/9295/2013plastics_the_facts_PubOct2013.pdf. Acedido em 24 de novembro, 2020.
- [14] Ügdüler, S., Geem K. M. V., Roosen, M., Delbeke, E. I. P., De Meester, S. “Challenges and opportunities of solvent-based additive extraction methods for plastic recycling”, *Waste Management*, 104, 148–182, 2020.
- [15] Carmen, S. “Microbial capability for the degradation of chemical additives present in petroleum-based plastic products: A review on current status and perspectives”, *Journal of Hazardous Materials*, 402, 1-18, 2020.
- [16] Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., Duflos, G. “Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review”, *Chemosphere*, 182, 781–793, 2017.
- [17] Pérez-Albaladejo, E., Solé, M., Porte, C. “Plastics and plastic additives as inducers of oxidative stress”, *Current Opinion in Toxicology*, 20–21, 69–76, 2020.
- [18] Bolívar-Subirats, G., Rivetti, C., Cortina-Puig, M., Barata, C., Lacorte, S. “Occurrence, toxicity and risk assessment of plastic additives in Besos river, Spain”, *Chemosphere*, 263, 1-9, 2020.
- [19] Tanaka, K., Takada, H., Ikenaka, Y., Nakayama, S. M. M., Ishizuka, M. “Occurrence and concentrations of chemical additives in plastic fragments on a beach on the island of Kauai, Hawaii”, *Marine Pollution Bulletin*, 150, 1-5, 2020.
- [20] Qi, R., Jones, D. L., Li, Z., Liu, Q., Yan, C. “Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review”, *Science of the Total Environment*, 703, 1-12, 2020.
- [21] Galafassi, S., Nizzetto, L., Volta, P. “Plastic sources: A survey across scientific and grey literature for their inventory and relative contribution to microplastics pollution in natural environments, with an emphasis on surface water”, *Science of the Total Environment*, 693, 1-14, 2019.
- [22] Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. “Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects”, *Science of the Total Environment*, 702, 1-9, 2019.

- [23] Geyer, R., Jambeck, J. R., Law, K. L. "Production, use and fate of all plastics ever made", *Science Advances*, 3, 25–29, 2017.
- [24] Nkwachukwu, O. I., Chima, C. H., Ikenna, A. O., Albert, L. "Focus on potential environmental issues on plastic world towards a sustainable plastic recycling in developing countries", *International Journal of Industrial Chemistry*, 4, 1-13, 2013.
- [25] Babu, R. P., O'Connor, K., Seeram, R. "Current progress on bio-based polymers and their future trends", *Progress Biomaterials*, 2, 1-16, 2013.
- [26] Imre, B., García, L., Puglia, D., Vilaplana, F. "Reactive compatibilization of plant polysaccharides and biobased polymers: Review on current strategies, expectations and reality", *Carbohydrate Polymers*, 209, 20–37, 2019.
- [27] Sidek, I. S., Draman, S. F. S., Abdullah, S. R. S., Anuar, N. "Current Development on Bioplastics and Its Future Prospects: an Introductory Review", *INWASCON Technology Magazine*, 1, 3–8, 2019.
- [28] Jögi, K., Bhat, R. "Valorization of food processing wastes and by-products for bioplastic production", *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 18, 1-10, 2020.
- [29] European Bioplastics, "Bioplastics market data 2019. Global Production Capacities of Bioplastics 2019-2024", https://docs.european-bioplastics.org/publications/market_data/Report_Bioplastics_Market_Data_2019.pdf. Acedido em 3 de dezembro, 2020.
- [30] Coles, R., Kirwan, M. "Food and Beverage Packaging Technology", London, Wiley-Blackwell, 295-319, 2011, ISBN: 9781444392166.
- [31] Saharan, B. S., Sharma, D., Ankita. "Bioplastics-For Sustainable Development: A review", *International Journal of Microbial Resource Technology*, 1, 11–23, 2012.
- [32] Albuquerque, P. B. S., Malafaia, C. B. "Perspectives on the production, structural characteristics and potential applications of bioplastics derived from polyhydroxyalkanoates", *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 615–625, 2017.
- [33] Ishii-Hyakutake, M., Mizuno, S., Tsuge, T. "Biosynthesis and characteristics of aromatic polyhydroxyalkanoates", *Polymers*, 10, 1–24, 2018.

- [34] Tsang, Y. F., Kumar, V., Samadar, P., Yang, Y., Lee, J., Ok, Y. S., Song, H., Kim, K., Kwon, E. E., Jeon, Y. J. "Production of bioplastic through food waste valorization", *Environment International*, 127, 625–644, 2019.
- [35] Bucci, D. Z., Tavares, L. B. B., Sell, I. "PHB packaging for the storage of food products", *Polymer Testing*, 24, 564–571, 2005.
- [36] Muižniece-Brasava, S., Dukaļska, L. "Impact of biodegradable PHB packaging composite materials on dairy product quality", *LLU Raksti*, 311, 79–87, 2006.
- [37] Jem, K. J., Bowen Tan, P. E. "The development and challenges of poly (lactic acid) and poly (glycolic acid)", *Advanced Industrial Engineering Polymer Research*, 3, 60–70, 2020.
- [38] Castro-Aguirre, E., Iñiguez-Franco, F., Samsudin, H., Fang, X., Auras, R. "Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 333–366, 2016.
- [39] Ncube, L. K., Ude, A. U., Ogunmuyiwa, E. N., Zulkifli, R., Beas, I. N. "Environmental impact of food packaging materials: A review of contemporary development from conventional plastics to polylactic acid based materials", *Materials*, 13, 1–24, 2020.
- [40] Leejarkpai, T., Suwanmanee, U., Rudeekit, Y., Mungcharoen, T. "Biodegradable kinetics of plastics under controlled composting conditions", *Waste Management*, 31, 1153–1161, 2011.
- [41] Song, J. H., Murphy, R. J., Narayan, R., Davies, G. B. H. "Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics", *Philosophical Transactions of Royal Society B, Biological Sciences*, 364, 2127–2139, 2009.
- [42] Havstad, M. R. "Plastic Waste and Recycling", Trevor Letcher, 97-129, 2020, ISBN: 978-0-12-817880-5.
- [43] Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., Ahmed, S. "Biological degradation of plastics: A comprehensive review", *Biotechnology Advances*, 26, 246–265, 2008.
- [44] Mohee, R., Unmar, G. D., Mudhoo, A., Khadoo, P. "Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions", *Waste Management*, 28, 1624–1629, 2008.

- [45] Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., Wang, L. B. “A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion”, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 1-16, 2018.
- [46] ISO 14855-1:2012. Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions – Method by analysis of evolved carbon dioxide - Part 1: General method.
- [47] Rudnik, E. “Compostable Polymer Materials”, Elsevier, 163–237, 2019, ISBN: 978-0-08-099438-3.
- [48] Funabashi, M., Ninomiya, F., Kunioka, M. “Biodegradability evaluation of polymers by ISO 14855-2”, *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 3635–3654, 2009.
- [49] Cadar, O., Paul, M., Roman, C., Miclean, M., Majdik, C. “Biodegradation behaviour of poly(lactic acid) and (lactic acid-ethylene glycol-malonic or succinic acid) copolymers under controlled composting conditions in a laboratory test system”, *Polymer Degradation and Stability*, 97, 354–357, 2012.
- [50] Harvey, D. “Modern Analytical Chemistry”, McGraw-Hill, 461-500, 2000, ISBN: 0-07-237547-7.
- [51] Webster, J. G. “The Measurement, Instrumentation and Sensors Handbook”, CRC Press, 71-1 – 71-16, 1999, ISBN: 0-8493-8347-1.
- [52] Mettler Toledo, “Basics of titration - Titration theory”, <https://www.mt.com/int/en/home/library/know-how/lab-analytical-instruments/titration-definition-titrant-titrate-guide.html>. Acedido em 6 de maio, 2021.
- [53] Metrohm, “Practical Titration”, <https://www.metrohm.com/en/documents/80295003>. Acedido em 10 de Maio, 2021.
- [54] SI Analytics, “Titration Handbook – Theory and practice of titration”, <https://www.xylem-analytics.com.au/media/pdfs/si-analytics-titration-handbook.pdf>. Acedido em 10 de maio, 2021.
- [55] Worsfold, P., Poole, C., Townshend, A., Miró, M. “Encyclopedia of Analytical Science”, Elsevier, 10, 121-129, 2019, ISBN: 978-0-08-101983-2.
- [56] ISO 17556:2012. Plastics – Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved.

- [57] Shimadzu Corporation, “Toc-VCPH/CPN & TOC – Control V Software”, http://www.ecs.umass.edu/eve/facilities/equipment/TOC/TOCV/TOC-V_CP_Users_Manual_E.pdf.
Acedido em 21 de junho, 2021.
- [58] Shimadzu, “On-Line TOC Analyzer Total Organic Carbon Analyzer”, <https://www.ssi.shimadzu.com/sites/ssi.shimadzu.com/files/Products/literature/toc/OnlineTOC-VCSH-Brochure-C391-E081A.pdf>. Acedido em 21 de junho, 2021.
- [59] ThermoScientific, “Elemental Analysis: CHNS/O characterization of pharmaceutical products by the Thermo Scientific FlashSmart EA”, <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-42306-oea-pharma-chnso-an42306-en.pdf>. Acedido em 21 de junho, 2021.
- [60] Thompson, M. “CHNS Elemental Analysers”, The Royal Society of Chemistry, 29, 1-2, 2008.
- [61] ThermoScientific, “Organic Elemental Analysis - Flash 2000 - Elemental Analyzer - Operating Manual”, <http://pcce.genetics.cas.cn/ptjs/zwyiyjpt/201301/P020130917350296624330.pdf>.
Acedido em 21 de junho, 2021.
- [62] ISO 15985:2014. Plastics – Determination of the ultimate anaerobic biodegradation under high-solids anaerobic-digestion conditions – Method by analysis of released biogas.
- [63] Quecholac-Piña, X., Hernández-Berriel, M. D. C., Mañón-Salas, M. D. C., Espinosa-Valdemar, R. M., Vázquez-Morillas, A. “Degradation of plastics under anaerobic conditions: A short review”, *Polymers*, 12, 1–20, 2020.
- [64] Yagi, H., Ninomiya, F., Funabashi, M., Kunioka, M. “Anaerobic biodegradation tests of poly(lactic acid) under mesophilic and thermophilic conditions using a new evaluation system for methane fermentation in anaerobic sludge”, *International Journal of Molecular Science*, 10, 3824–3835, 2009.
- [65] Ritter, “RITTER MilliGascounter® Type MGC-1”, <https://www.ritter.de/downloads/mgc-milligascounter-en/>. Acedido em 21 de julho, 2021.
- [66] Mezzanotte, V., Bertani, R., Innocenti, F. D., Tosin, M. “Influence of inocula on the results of biodegradation tests”, *Polymer Degradation and Stability*, 87, 51-56, 2005.
- [67] Castro-Aguirre, E., Auras, R., Selke, S., Rubino, M., Marsh, T. “Insights on the aerobic biodegradation of polymers by analysis of evolved carbon dioxide in simulated composting conditions”, *Polymer Degradation and Stability*, 137, 251-271, 2017.

- [68] Ge, B., McCartney, D., Zeb, J. "Compost environmental protection standards in Canada", *Journal of Environmental Engineering and Science*, 5, 221-234, 2006.
- [69] Grima, S., Bellon-Maurel, V., Feuilloley, P., Silvestre, F. "Aerobic biodegradation of polymers in solid-state conditions: A Review of environmental and physicochemical parameter settings in laboratory simulations", *Journal of Polymers and the Environment*, 8, 183-195, 2000.
- [70] Sundberg, C., Jonsson, H. "Higher pH and faster decomposition in biowaste composting by increased aeration", *Waste Management*, 28, 518-526, 2008.
- [71] Berthe, L., Druilhe, C., Massiani, C., Tremier, A., Guardia, A. "Coupling a respirometer and a pycnometer, to study the biodegradability of solid organic wastes during composting", *Biosystems Engineering*, 97, 75-88, 2007.
- [72] Iovino, R., Zullo, R., Rao, M. A., Cassar, L., Gianfreda, L. "Biodegradation of poly(lactic acid)/starch/coir biocomposites under controlled composting conditions", *Polymer Degradation and Stability*, 93, 147-157, 2008.
- [73] Tokiwa, Y., Calabia, B. P. "Biodegradability and biodegradation of poly(lactide)", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72, 244-251, 2006.
- [74] Tsuji, H., Miyauchi, S. "Poly(L-lactide): VI Effects of crystallinity on enzymatic hydrolysis of poly(L-lactide) without free amorphous region", *Polymer Degradation and Stability*, 71, 415-424, 2001.
- [75] Naser, A. Z., Deiab, I., Darras, B. M. "Poly(lactic acid) (PLA) and polyhydroxyalkanoates (PHAs), green alternatives to petroleum-based plastics: a review", *RSC Advances*, 11, 17151-17196, 2021.
- [76] Kale, G., Auras, R., Singh, S. P. "Comparison of the degradability of poly(lactide) packages in composting and ambient exposure conditions", *Packaging Technology and Science*, 20, 49-70, 2007.
- [77] Corrêa, M. C. S., Rezende, M. L., Rosa, D. S., Agnelli, J. A. M., Nascente, P. A. P. "Surface composition and morphology of poly(3-hydroxybutyrate) exposed to biodegradation", *Polymer Testing*, 27, 447-452, 2008.
- [78] Weng, X., Wang, L., Wang, Z. "Biodegradation behavior of PHAs with different chemical structures under controlled composting conditions", *Polymer Testing*, 30, 372-380, 2011.
- [79] ASTM D 5988-12. Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in Soil.

- [80] Pagga, U., Beimborn, D. B., Boelens, J., Wilde, B. D. "Determination of the aerobic biodegradability of polymeric material in a laboratory controlled composting test", *Chemosphere*, 31, 4475-4487, 1995.
- [81] Emadian, S. M., Onay, T. T., Demirel, B. "Biodegradation of bioplastics in natural environments", *Waste Management*, 59, 526-536, 2017.
- [82] Hedge, S., Diaz, C. A., Dell, E. M., Trabold, T. A., Lewis, C. L. "Investigation of process parameters on the anaerobic digestion of a poly(hydroxyalkonate) film", *European Polymer Journal*, 148, 1-7, 2021.
- [83] Yagi, H., Ninomiya, F., Funabashi, M., Kunioka, M. "Anaerobic biodegradation of poly (lactic acid) film in anaerobic sludge", *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 673-680, 2012.
- [84] Yagi, H., Ninomiya, F., Funabashi, M., Kunioka, M. "RNA analysis of anaerobic sludge during anaerobic biodegradation of cellulose and poly(lactic acid) by RT-PCR-DCGE", *Polymer Degradation and Stability*, 96, 547-552, 2011.
- [85] Itavaara, M., Karjomaa, S., Selin, J. "Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions", *Chemosphere*, 6, 879-885, 2002.

Capítulo 6 – Anexos

6.1. Quantidade de dióxido de carbono libertada nos ensaios de biodegradabilidade determinada utilizando o analisador de carbono

Tabela 18 - Quantidade de dióxido de carbono libertada no frasco em branco, com a celulose, PHA e APIMAT através do analisador de carbono.

Dia de operação (dia)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco em branco (g)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco com celulose (g)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco com PHA (g)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco com APIMAT (g)
0	0	0	0	0
3	0,75	4,23	2,16	1,18
7	4,44	6,92	6,14	4,84
10	6,62	8,65	8,34	6,95
14	8,11	12,84	10,02	7,46
21	9,48	17,55	11,41	11,12
28	10,89	18,15	11,91	11,90
31	13,20	24,98	18,70	16,28
34	14,69	28,76	22,93	18,46
39	15,38	30,56	23,96	20,36
44	15,82	31,59	24,89	21,48
49	17,16	33,88	28,23	24,44
54	18,16	35,68	31,38	26,07
59	19,81	36,87	33,58	29,05
64	20,31	39,61	35,90	32,95
69	21,02	42,13	39,62	35,72
74	21,61	45,23	43,30	38,69
79	21,81	46,26	48,37	41,80
84	24,11	51,39	53,90	44,65
89	25,31	57,82	56,85	48,21
94	25,80	64,09	61,96	51,44
99	26,99	68,37	68,60	55,68

103	28,46	71,58	71,97	60,18
107	29,39	73,80	76,87	64,41
111	30,08	76,40	80,14	67,32
115	30,52	79,88	86,71	72,23
119	31,80	83,94	92,37	76,86
123	33,41	90,65	100,46	79,67
127	35,49	94,49	106,85	82,36
131	37,64	99,90	112,26	84,73
135	39,05	104,11	116,91	87,09
139	40,31	106,60	121,04	89,17
143	41,25	109,17	123,96	91,45
147	41,94	111,17	126,44	94,77
151	43,08	112,62	129,78	97,40
155	44,22	115,25	133,79	101,41
159	46,17	117,77	138,11	106,18
163	47,57	120,90	141,06	110,87
167	48,29	123,52	144,75	114,07
171	48,89	125,59	147,64	116,80
175	50,47	127,55	151,06	119,79
180	52,05	128,99	155,00	123,01

6.2. Percentagem de biodegradação calculada segundo a norma ISO 14855:2012

Tabela 19 - Percentagem de biodegradação da celulose, PHA e APIMAT.

Dia de operação (dia)	Percentagem de biodegradação da Celulose (%)	Percentagem de biodegradação do PHA (%)	Percentagem de biodegradação do APIMAT (%)
0	0,0	0,0	0,0
3	4,3	1,3	0,5
7	3,1	1,6	0,5
10	2,5	1,6	0,4
14	5,9	1,8	-0,8
21	10,0	1,9	2,0
28	9,0	1,0	1,3
31	14,6	5,3	3,8
34	17,4	7,9	4,7
39	18,8	8,2	6,2
44	19,5	8,7	7,0
49	20,7	10,6	9,0
54	21,7	12,7	9,8
59	21,1	13,2	11,5
64	23,9	15,0	15,7
69	26,2	17,9	18,2
74	29,3	20,8	21,2
79	30,3	25,5	24,8
84	33,8	28,6	25,5
89	40,3	30,3	28,4
94	47,5	34,7	31,8
99	51,3	40,0	35,6
103	53,4	41,8	39,3
107	55,0	45,6	43,4
111	57,4	48,1	46,2

115	61,2	53,9	51,7
119	64,6	58,1	55,9
123	70,9	64,4	57,4
127	73,1	68,5	58,1
131	77,2	71,6	58,4
135	80,6	74,7	59,6
139	82,2	77,5	60,6
143	84,2	79,4	62,3
147	85,8	81,1	65,5
151	86,2	83,2	67,4
155	88,0	86,0	71,0
159	88,7	88,3	74,4
163	90,9	89,7	78,5
167	93,2	92,6	81,6
171	95,1	94,8	84,2
175	95,5	96,6	86,0
180	95,4	98,8	88,0

6.3. Quantidade de dióxido de carbono libertada nos ensaios de biodegradabilidade determinada através da titulação potenciométrica

Tabela 20 - Quantidade de dióxido de carbono libertada no frasco em branco, com a celulose, PHA e APIMAT através da titulação potenciométrica.

Dia de operação (dia)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco em branco (g)	Dia de operação (dia)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco com celulose (g)	Dia de operação (dia)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco com PHA (g)	Dia de operação (dia)	Quantidade de dióxido de carbono produzido pelo frasco com PHA (g)
0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
3	0,18	3	0,24	3	0,27	3	0,21
6	0,38	6	0,48	6	0,55	6	0,42
7	0,65	7	0,75	7	0,82	7	0,68
8	0,93	8	1,03	8	1,10	8	0,95
10	0,97	10	1,07	10	1,14	10	0,99
13	1,02	13	1,12	13	1,17	13	1,05
14	1,14	14	1,39	14	1,28	14	1,20
17	1,27	17	1,66	17	1,41	17	1,38
21	1,31	21	1,71	21	1,46	21	1,42
24	1,34	24	1,74	24	1,50	24	1,48
28	1,40	28	1,82	28	1,54	28	1,52
31	1,48	31	1,89	31	1,61	31	1,57
42	1,52	42	1,93	42	1,70	42	1,65
46	1,58	62	2,15	46	1,88	62	1,74
62	1,72	70	2,18	62	2,08	67	1,92
67	2,00	77	2,19	67	2,30	70	1,97
70	2,06	81	2,18	70	2,36	74	2,06
74	2,15	97	2,16	74	2,46	77	2,06
77	2,17	104	2,03	77	2,46	97	1,96
81	2,22	112	2,27	81	2,46	104	1,89

97	2,24	117	2,51	109	2,59	109	1,92
104	2,28			112	2,76	112	2,10
109	2,38					117	2,37
117	2,77						

6.4. Quantidade de biogás libertado nos ensaios de biodegradabilidade

Tabela 21 – Volume de biogás libertado no frasco em branco, com celulose, PHA e APIMAT.

Dia de operaç ão (dia)	Quantidade de biogás libertado pelo frasco em branco (mL)	Quantidade de biogás libertado pelo frasco com celulose (mL)	Quantidade de biogás libertado pelo frasco com PHA (mL)	Quantidade de biogás libertado pelo frasco com APIMAT (mL)
0	0,00	0,00	0,00	0,00
0,75	41,86	135,34	77,38	142,88
1	61,88	240,38	119,78	186,12
1,75	122,85	863,55	281,96	341,22
2	122,85	1813,96	299,98	345,92
4,75	127,40	5037,88	555,44	449,32
5	134,68	5080,30	615,88	458,72
5,9	134,68	5227,76	805,60	483,18
6	141,04	5256,04	838,46	491,61
6,9	141,05	5361,08	977,32	509,48
7	152,88	5391,38	1002,76	517,94
7,9	156,52	5456,02	1102,76	524,52
8	162,85	5487,33	1125,72	534,86
8,9	162,89	5520,66	1203,10	534,86
9	174,72	5552,98	1223,24	560,24
11,75	187,46	5910,52	1373,76	589,38
12	195,69	5999,40	1378,00	589,38
12,9	198,38	6629,64	1409,80	603,48
13	205,68	6725,59	1424,64	605,38
13,9	205,68	7667,92	1446,90	607,24
14	206,57	7791,14	1457,50	615,70
14,9	206,57	8877,90	1498,84	622,28
15	206,57	8967,79	1504,14	624,16
15,9	211,12	9562,68	1573,04	637,32

16	211,12	9630,35	1580,46	639,20
19	211,12	10171,71	1948,28	669,28
20	236,60	10396,66	2403,02	732,28
21	236,60	10456,53	3051,74	750,12
22	236,60	10585,81	3984,54	772,68
23	236,60	10729,23	4617,36	791,48
26	236,60	11294,83	5470,66	831,90
27	236,60	11396,84	5555,48	893,00
28	237,51	11479,66	5618,00	950,34
29	240,24	11608,94	5687,96	1058,44
30	240,24	11723,07	5732,48	1182,52
33	240,24	12010,92	5880,88	1638,42
35	241,15	12214,94	5973,10	1973,06
36	241,15	12306,85	5997,48	2045,44
37	241,15	12362,40	6016,56	2045,44
40	245,70	12510,87	6087,58	2377,28
42	249,34	12602,78	6136,34	2618,84
43	258,44	12644,19	6175,56	2734,46
44	258,44	12683,58	6184,04	2839,74
47	267,54	12796,70	6237,04	2931,86
49	268,45	12845,18	6277,32	3142,42
50	269,36	12857,30	6292,16	3257,10
51	269,36	12860,33	6294,28	3265,10
54	331,24	12949,21	6375,90	3476,12
55	331,24	12949,21	6375,90	3476,12
56	393,12	13042,13	6922,86	3716,78
57	393,12	13042,13	7057,46	3733,68
58	393,12	13043,14	7114,72	3764,70
61	394,03	13043,14	9644,94	3842,72
62	395,85	13043,14	10541,70	3875,62
63	414,96	13074,45	10543,82	3916,04

65	417,69	13082,53	11319,74	4006,28
68	419,51	13104,75	12565,24	4121,90
69	419,51	13138,08	12565,24	4168,90
70	419,51	13152,22	12565,24	4199,92
72	422,24	13179,49	12565,24	4254,44
75	422,24	13250,15	12565,24	4345,62
76	422,24	13283,52	12565,24	4377,58
77	422,24	13319,88	12565,24	4402,02
78	422,24	13371,39	12565,24	4435,88
79	422,24	13414,82	12565,24	4459,36
83	423,15	13514,81	12565,24	4548,66
84	423,15	13523,90	12565,24	4574,04
85	423,15	13523,90	12565,24	4584,38
86	423,15	13526,93	12565,24	4597,54
89	423,15	13541,07	12565,24	4650,18
90	423,15	13549,15	12565,24	4673,68

6.5. Percentagem de biodegradação segundo a norma ISO 15985:2014

Tabela 22 - Percentagem de biodegradação da celulose, PHA e APIMAT.

Dia de operação (dia)	Percentagem de biodegradação da celulose (%)	Percentagem de biodegradação do PHA (%)	Percentagem de biodegradação do APIMAT (%)
0	0,0	0,0	0,0
0,75	0,5	0,2	0,5
1	1,0	0,3	0,6
1,75	4,3	0,7	1,0
2	9,8	0,8	1,1
4,75	28,5	2,0	1,5
5	28,7	2,2	1,5
5,9	29,6	3,1	1,6
6	29,7	3,2	1,7
6,9	30,3	3,9	1,7
7	30,4	3,9	1,7
7,9	30,8	4,4	1,7
8	30,9	4,5	1,8
8,9	31,1	4,8	1,8
9	31,2	4,9	1,8
11,75	33,2	5,5	1,9
12	33,7	5,5	1,9
12,9	37,3	5,6	1,9
13	37,9	5,6	1,9
13,9	43,3	5,8	1,9
14	44,0	5,8	1,9
14,9	50,3	6,0	2,0
15	50,9	6,0	2,0
15,9	54,3	6,3	2,0
16	54,7	6,3	2,0

19	57,8	8,1	2,2
20	59,0	10,0	2,3
21	59,3	13,0	2,4
22	60,1	17,4	2,5
23	60,9	20,3	2,6
26	64,2	24,3	2,8
27	64,8	24,7	3,1
28	65,3	24,9	3,4
29	66,0	25,2	3,9
30	66,7	25,5	4,4
33	68,3	26,1	6,6
35	69,5	26,6	8,2
36	70,1	26,7	8,5
37	70,4	26,8	8,5
40	71,2	27,1	10,0
42	71,7	27,3	11,2
43	71,9	27,4	11,7
44	72,1	27,5	12,2
47	72,7	27,7	12,6
49	73,0	27,8	13,5
50	73,1	27,9	14,1
51	73,1	27,9	14,1
54	73,3	28,0	14,8
55	73,3	28,0	14,8
56	73,4	30,3	15,7
57	73,4	30,9	15,7
58	73,4	31,2	15,9
61	73,4	42,9	16,2
62	73,4	47,0	16,4
63	73,5	46,9	16,5
65	73,5	50,5	16,9

68	73,7	56,3	17,4
69	73,8	56,3	17,7
70	73,9	56,3	17,8
72	74,1	56,3	18,1
75	74,5	56,3	18,5
76	74,7	56,3	18,6
77	74,9	56,3	18,8
78	75,2	56,3	18,9
79	75,4	56,3	19,0
83	76,0	56,3	19,4
84	76,1	56,3	19,6
85	76,1	56,3	19,6
86	76,1	56,3	19,7
89	76,2	56,3	19,9
90	76,2	56,3	20,0