



# CATÓLICA

UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO  
Escola Superior de Biotecnologia

VALIDAÇÃO DE PARÂMETROS DE TRANSFORMAÇÃO PARA UMA UNIDADE DE COMPOSTAGEM POR SISTEMA MULTI-TÚNEL, DE ACORDO COM OS REQUISITOS DO REGULAMENTO (CE) N.º 1069/2009, COMPLEMENTADO COM O REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) N.º 142/2011 E RESPECTIVAS ALTERAÇÕES INTRODUZIDAS PELO REGULAMENTO (UE) N.º 2015/9

por

Susana Isabel Miranda Lopes

novembro 2015





# CATÓLICA

UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO  
Escola Superior de Biotecnologia

VALIDAÇÃO DE PARÂMETROS DE TRANSFORMAÇÃO PARA UMA UNIDADE DE COMPOSTAGEM POR SISTEMA MULTI-TÚNEL, DE ACORDO COM OS REQUISITOS DO REGULAMENTO (CE) N.º 1069/2009, COMPLEMENTADO COM O REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) N.º 142/2011 E RESPETIVAS ALTERAÇÕES INTRODUZIDAS PELO REGULAMENTO (UE) N.º 2015/9

Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia  
da Universidade Católica Portuguesa para obtenção do grau de  
Mestre em Engenharia do Ambiente

por

Susana Isabel Miranda Lopes

Local: Lipor – Serviço Intermunicipalizado de Gestão de Resíduos do Grande Porto

Orientação científica: Paula Cristina Maia Teixeira, PhD, Professora Assistente UCP-ESB

Orientação na Lipor: Fernando Leite, Dr., Administrador Delegado Lipor

novembro 2015



## RESUMO

A produção de resíduos biodegradáveis, incluindo subprodutos de origem animal, tem vindo a crescer ao longo dos anos, enquanto que os solos, por oposição, estão progressivamente a perder matéria orgânica, resultado de práticas de cultivo intensivas e exposição a condições climáticas adversas.

Pode definir-se a compostagem como uma decomposição biológica aeróbia da matéria orgânica, produzindo um material estável, higienizado, benéfico para os solos e para o crescimento vegetal. Em geral, tem sido admitido que, se os processos de compostagem forem operados de forma adequada, é assegurada a higienização do composto final. O binómio temperatura/tempo de exposição é referido como a condição mais importante na inativação dos agentes patogénicos.

A investigação no domínio da compostagem tem-se multiplicado nas décadas mais recentes, orientada tanto para o estudo dos fenómenos a montante como a jusante do processo. Com o presente trabalho pretendeu destacar-se algumas das temáticas essenciais da compostagem nomeadamente, fundamentos e fatores críticos do processo, inativação e sobrevivência de microrganismos patogénicos, considerações sobre subprodutos animais, bem como validar, em ambiente industrial, um modelo para verificação de parâmetros de transformação alternativos dando cumprimento aos requisitos constantes do Regulamento de execução (UE) n.º 142/2011 e respetivas alterações introduzidas pelo Regulamento (UE) n.º 2015/9. O modelo selecionado pretendeu ser de fácil aplicabilidade, fiável, representativo e adequado ao sistema de compostagem multi-túnel.

Na realização experimental utilizou-se um meio de cultura contendo uma concentração elevada (aproximadamente  $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>) de um organismo indicador, *Enterococcus faecalis* estirpe ATCC 29212. A validação dos parâmetros de transformação alternativos decorreu em três túneis de 1.ª fase e em um túnel de 2.ª fase de compostagem, todos com controlo automático e contínuo de temperatura. A análise dos resultados experimentais permitiu concluir que, no caso sistema multi-túnel da Central de Valorização Orgânica Lipor e para a mistura utilizada, um período de exposição de 24 horas e uma temperatura de 60 °C asseguram as condições de higienização exigidas pela regulamentação aplicável aos subprodutos animais. Os resultados experimentais demonstraram uma redução superior a 7 unidades logarítmicas para *Ent. faecalis*. Foi também verificado no composto o nível de *Ent. faecalis* de modo a detetar qualquer situação de crescimento do referido organismo após a conclusão do processo de compostagem. Os valores obtidos ( $< 1,0 \times 10^1$ .g<sup>-1</sup>) revelaram que não houve crescimento de *Ent. faecalis*, refletindo um grau de estabilização (e maturação) elevado do composto, não possibilitando qualquer fenómeno de repovoamento.

## PALAVRAS-CHAVE

Biorresíduos, compostagem, subprodutos de origem animal, inativação térmica, higienização, validação, *Enterococcus faecalis*.



## ABSTRACT

The production of bio-waste, including animal by-products, has been growing over the years, while the soil, by contrast, is gradually losing organic matter, resulting from intensive farming practices and exposure to adverse weather conditions.

Composting can be defined as an aerobic biological decomposition of organic matter, producing a stable material, sanitized, beneficial for the soil and plant growth. In general, it has been accepted that if the composting processes are operated appropriately, the hygienisation of the final compound is ensured. The temperature/exposure time is referred to as the most important condition in the inactivation of pathogens.

The research in the field of composting has multiplied in recent decades, driven both the study of phenomena upstream and downstream of the process. The present work was intended to highlight some of the key topics of composting, namely fundamentals and critical factors of the process, inactivation and survival of pathogenic microorganisms, considerations of animal by-products, as well as validate, in an industrial environment, a model to check alternative transformation parameters in compliance with the requirements of the Implementing Regulation (EU) No 142/2011 and respective changes introduced by Regulation (EU) No 2015/9. The selected methodology intended to be easy to apply, reliable, representative and suitable for multi-tunnel composting system.

During the experiment a spiked culture containing a high concentration (approximately  $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>) of an indicator organism, *Enterococcus faecalis* strain ATCC 29212, was used. The validation of alternative transformation parameters held in three tunnels of 1<sup>st</sup> phase and in a tunnel of 2<sup>nd</sup> composting phase, all with automatic and continuous monitoring of temperature. The analysis of experimental results concluded that, for a multi-tunnel system as *Central de Valorização Orgânica Lipor* and the same mixing input, a period of exposure of 24 hours and a temperature of 60 °C ensure the sanitation conditions required under the guidelines applicable to animal by-products. The experimental results showed a reduction of more than 7 log cycles for *Ent. faecalis*. The level of *Ent. faecalis* in compost was evaluated to detect any growth of the organism after the conclusion of the composting process. The values obtained ( $<1,0 \times 10^1 \cdot g^{-1}$ ) showed no growth *Ent. faecalis*, reflecting a high degree of stabilization (and maturity) for compost, not allowing any regrowth phenomenon.

## KEY-WORDS

Bio-waste, composting, animal by-products, thermal inactivation, sanitation, validation, *Enterococcus faecalis*.



## **AGRADECIMENTOS**

Para a concretização desta dissertação foi fundamental o incentivo, apoio, disponibilidade e compreensão de todas as pessoas que, direta ou indiretamente, colaboraram e me auxiliaram neste trabalho. A todas elas, o meu sincero Obrigada.

Em primeiro lugar, o meu reconhecimento é dirigido à Professora Doutora Paula Teixeira pela confiança depositada e pelo acompanhamento e receptividade sempre manifestados no decorrer da elaboração desta tese, constituindo o seu saber, entusiasmo e afabilidade uma referência e inspiração para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Um agradecimento muito especial por todos os ensinamentos que me transmitiu.

À Eng.<sup>a</sup> Paula Morgado, que me acompanhou a nível da Central de Valorização Orgânica da Lipor, sempre com motivação, dinamismo, amizade e boa disposição e cujos contributos pertinentes e construtivos não podem deixar de ser realçados.

À Lipor, em especial na pessoa do seu Administrador Delegado, Dr. Fernando Leite, por me ter proporcionado os meios necessários para desenvolver este trabalho e concretizar a componente prática na Central de Valorização Orgânica. A vitalidade e espírito empreendedor com que lidera a Organização são um exemplo de dedicação ímpares.

Ao Colega Luís Camponês, sempre disponível e colaborante, dando sugestões perspicazes e criativas, tendo sido um apoio essencial na execução da componente experimental.

Ao Cees Monster pela sua disponibilidade e conhecimento técnico.

Às Colegas Eliana Miranda e Susete Coutinho que sempre colaboraram com prontidão, preparando e disponibilizando os dados operacionais relevantes para a realização desta dissertação.

À Colega Isabel Nunes pela amabilidade e celeridade demonstradas, facultando informação técnico-científica sempre que solicitado.

Não menos importante, a preciosa ajuda e acompanhamento dos funcionários da Hidurbe - CVO, em especial na pessoa do Sr. Bernardino, que colaborou, com o seu empenho e conhecimento prático ímpares, nos ensaios experimentais. O meu profundo agradecimento e admiração.

À Professora Doutora Paula Castro pela sua amabilidade e motivação.

À minha Família e Amigos.

A todos agradeço, profundamente.

Índice	
<b>RESUMO</b> .....	<b>3</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE</b> .....	<b>3</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>KEY-WORDS</b> .....	<b>5</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>7</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>13</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>15</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>17</b>
<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>1.1 ENQUADRAMENTO</b> .....	<b>19</b>
<b>1.2 OBJETIVO E ESQUEMA CONCEPTUAL DO TRABALHO</b> .....	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO 2 – COMPOSTAGEM</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1 ENQUADRAMENTO</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2 FUNDAMENTOS DO PROCESSO</b> .....	<b>25</b>
<b>2.3 MICROBIOLOGIA DO PROCESSO</b> .....	<b>27</b>
2.3.1 BACTÉRIAS .....	28
2.3.2 FUNGOS.....	28
2.3.3 VÍRUS .....	28
<b>2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM O PROCESSO</b> .....	<b>29</b>
2.4.1 AMBIENTE BIOLÓGICO .....	29
2.4.2 AMBIENTE QUÍMICO .....	29
2.4.2.1 RELAÇÃO C:N .....	29
2.4.2.2 PH .....	30
2.4.3 AMBIENTE FÍSICO .....	31
2.4.3.1 TEMPERATURA .....	31
2.4.3.2 HUMIDADE .....	32
2.4.3.3 POROSIDADE.....	32
2.4.3.4 AREJAMENTO .....	32
<b>2.5 COMPOSTO</b> .....	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 3 – INATIVAÇÃO DE AGENTES PATOGENICOS POR COMPOSTAGEM.....</b>	<b>35</b>

<b>3.1 ENQUADRAMENTO.....</b>	<b>35</b>
<b>3.2 PRINCIPAIS AGENTES PATOGÉNICOS PRESENTES NOS RESÍDUOS ORGÂNICOS .....</b>	<b>36</b>
<b>3.3 FATORES CRÍTICOS NA INATIVAÇÃO E RECRESIMENTO DE MICRORGANISMOS PATOGÉNICOS .....</b>	<b>38</b>
<b>3.4 ORGANISMOS INDICADORES.....</b>	<b>43</b>
<b>3.5 MÉTODOS DE VALIDAÇÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO 4 - SUBPRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL .....</b>	<b>49</b>
<b>4.1 ENQUADRAMENTO .....</b>	<b>49</b>
<b>4.2 REGULAMENTAÇÃO DA UE EM MATÉRIA DE SUBPRODUTOS ANIMAIS .....</b>	<b>49</b>
<b>4.3 CATEGORIZAÇÃO DE SPOA.....</b>	<b>50</b>
4.3.1 MATÉRIAS CATEGORIA 1.....	51
4.3.2 MATÉRIAS CATEGORIA 2.....	51
4.3.3 MATÉRIAS CATEGORIA 3.....	51
<b>4.4 OPÇÕES DE HIGIENIZAÇÃO PARA SPOA .....</b>	<b>52</b>
4.4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	52
4.4.2 MÉTODOS ALTERNATIVOS .....	57
<b>CAPÍTULO 5 – BREVE ABORDAGEM AO HACCP .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>59</b>
<b>5.2 ANÁLISE DE PERIGOS E IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLO .....</b>	<b>60</b>
<b>5.3 PLANO HACCP PARA A CVO.....</b>	<b>62</b>
<b>CAPÍTULO 6 - VALIDAÇÃO DOS PARÂMETROS DE TRANSFORMAÇÃO ALTERNATIVOS NA CVO .....</b>	<b>63</b>
<b>6.1 ENQUADRAMENTO.....</b>	<b>63</b>
<b>6.2 BREVE DESCRIÇÃO DA CENTRAL DE VALORIZAÇÃO ORGÂNICA DA LIPOR .....</b>	<b>64</b>
<b>6.3 METODOLOGIA ANALÍTICA.....</b>	<b>66</b>
<b>6.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>67</b>
6.4.1 MATERIAIS .....	67
6.4.2 MÉTODO .....	68
<b>6.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>71</b>
<b>6.7 RESULTADOS .....</b>	<b>77</b>
6.7.1 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DAS AMOSTRAS, PRÉ-COMPOSTAGEM.....	77

6.7.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DAS AMOSTRAS, PÓS-COMPOSTAGEM.....	79
6.7.3 TEMPERATURA NO INTERIOR DOS TÚNEIS DE COMPOSTAGEM.....	80
6.7.4 RESUMO DOS RESULTADOS.....	82
6.7.5 COMPARAÇÃO ENTRE VÍRUS TERMORRESISTENTES E <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> .....	83
6.7.6 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.....	84
<b>CAPÍTULO 7 – CONCLUSÃO .....</b>	<b>87</b>
<b>7.1 PRINCIPAIS CONSTATAÇÕES .....</b>	<b>87</b>
<b>7.2 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....</b>	<b>88</b>
<b>7.3 PERSPETIVAS FUTURAS.....</b>	<b>88</b>
<b>7.4 CONCLUSÕES FINAIS .....</b>	<b>90</b>
<b>APÊNDICE I - CENTRAL DE VALORIZAÇÃO ORGÂNICA DA LIPOR.....</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICE II - CONJUNTO DE DADOS DE SUPORTE AO PROCESSO DE VALIDAÇÃO .....</b>	<b>107</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>111</b>



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1 – Principais <i>inputs</i> e <i>outputs</i> da compostagem .....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 4.1 – Métodos de higienização para diferentes categorias de SPOA .....</b>	<b>54</b>
<b>Figura 5.1 – Sistema de garantia de qualidade, incluindo HACCP .....</b>	<b>59</b>
<b>Figura 5.2 – Conceção de um plano HACCP para unidades de compostagem sujeitas a validação .....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 6.1 – Representação esquemática das etapas que ocorrem em cada fase de compostagem em túnel, CVO .....</b>	<b>65</b>
<b>Figura 6.2 – CVO, fluxograma do processo de compostagem e pontos de validação .....</b>	<b>66</b>
<b>Figura 6.3 – Esquema do recipiente esterilizado (frasco de prova/teste) .....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 6.4 – Esquema da vista frontal do posicionamento das sondas de aço perfuradas nos túneis de pré-compostagem e de pós-compostagem .....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 6.5 – Esquema da colocação dos organismos de teste no interior dos túneis da CVO .....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 6.6 – Sonda metálica perfurada, tubo de inserção e respetivo fio de extração ....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 6.7 – Caixa refrigerada .....</b>	<b>72</b>
<b>Figura 6.8 – Material de apoio, incluindo termómetro .....</b>	<b>72</b>
<b>Figura 6.9 – Sondas metálicas perfuradas .....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 6.10 – Sondas metálicas e fio de extração .....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 6.11 – Receção e preparação da mistura inicial .....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 6.12 – Mistura inicial (1ª fase) .....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 6.13 – Rede para peneiramento da amostra .....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 6.14 – Preparação da amostra para inoculação .....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 6.15 – Pesagem da amostra antes da inoculação .....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 6.16 – Meio de cultura .....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 6.17 – Adição do organismo de teste à mistura .....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 6.18 – Preparação das amostras de teste e de referência .....</b>	<b>75</b>

<b>Figura 6.19 – Conjunto de amostras e respectivas referências .....</b>	<b>75</b>
<b>Figura 6.20 – Colocação das amostras de teste na sonda perfurada .....</b>	<b>75</b>
<b>Figura 6.21 – Colocação das sondas metálicas no túnel (túnel de 1ª fase e túnel de 2.ª fase, respetivamente) .....</b>	<b>75</b>
<b>Figura 6.22 – Sondas e fios de extração em túnel de 1.ª fase .....</b>	<b>76</b>
<b>Figura 6.23 – Fios de extração identificados em túnel (fitas azuis) .....</b>	<b>76</b>
<b>Figura 6.24 – Abertura das sondas metálicas após tempo de exposição .....</b>	<b>76</b>
<b>Figura 6.25 – Recipientes após período de exposição em túnel, túnel de 1ª fase e túnel de 2ª fase, respetivamente .....</b>	<b>76</b>
<b>Figura 6.26 – Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 15, fase pré-compostagem .....</b>	<b>81</b>
<b>Figura 6.27 – Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 8, fase pré-compostagem .....</b>	<b>81</b>
<b>Figura 6.28 – Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 12, fase pré-compostagem .....</b>	<b>81</b>
<b>Figura 6.29 – Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 3, fase pós-compostagem .....</b>	<b>82</b>
<b>Figura 6.30 – Redução de <math>5\log_{10}</math> para bactérias e de <math>3\log_{10}</math> para vírus, em função da temperatura .....</b>	<b>84</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Relações de C:N ótimas para o processo de compostagem .....	30
Tabela 3.1 – Fatores físico-químicos e biológicos que afetam o crescimento dos microrganismos .....	38
Tabela 3.2 – Exemplos de Valor-D para organismos patogénicos em resíduos orgânicos .....	41
Tabela 3.3 – Temperatura e tempo necessários para eliminar <i>S. spp</i> e <i>E. coli</i> .....	41
Tabela 6.1 – Validação do processo de compostagem da CVO, cronograma de ensaios em túnel .....	72
Tabela 6.2 – Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus spp.</i> Pré-compostagem .....	77
Tabela 6.3 – Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus spp.</i> Pré-compostagem .....	78
Tabela 6.4 – Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus spp.</i> Pré-compostagem .....	78
Tabela 6.5 – Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus spp.</i> Pós-compostagem .....	79
Tabela 6.6 – Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus spp.</i> Pós-compostagem .....	80
Tabela 6.7 – Resumo dos resultados obtidos .....	82
Tabela 6.8 – Comparativo dos dados obtidos para a medição da temperatura .....	83



## LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
CE	Comissão Europeia
CVO	Central de Valorização Orgânica Lipor
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
EM	Estados Membros
<i>Ent.</i>	<i>Enterococcus</i>
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
GEEs	Gases de efeito de estufa
PCC	Ponto Crítico de Controlo
PVB	Parvovírus bovino
PVP	Parvovírus porcino
RU	Resíduos Urbanos
<i>S.</i>	<i>Salmonella</i>
SPOA	Subprodutos de origem animal
spp.	Subespécies
UE	União Europeia
UFC	Unidades formadoras de colónias
VIA	Vírus Influenza Aviária



## CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

### 1.1 ENQUADRAMENTO

A produção de resíduos urbanos, incluindo os resíduos biodegradáveis, tem vindo a crescer ao longo dos anos, enquanto que os solos, por oposição, estão progressivamente a perder matéria orgânica, resultado de práticas de cultivo intensivas e exposição a condições climáticas adversas. A reciclagem de resíduos biodegradáveis, mediante um tratamento biológico adequado, pode produzir matéria orgânica benéfica e ser de grande interesse nos países onde os solos estão esgotados (Hassen *et al.*, 2002). A matéria orgânica é um componente elementar dos solos desempenhando um papel essencial na conservação e manutenção da fertilidade do solo e na produção vegetal. Assim, devido à crescente desertificação dos solos, a produção de corretivos orgânicos a partir da valorização da fração biodegradável é, cada vez mais, assumida como um pilar estratégico na gestão de resíduos.

Uma das principais decisões na gestão dos biorresíduos prende-se com a escolha da tecnologia, a qual deve responder adequadamente aos objetivos definidos. Tendo em consideração a composição dos resíduos urbanos e a quantidade a tratar, diferentes tecnologias serão mais vantajosas relativamente a outras. Um conhecimento aprofundado do fluxo biodegradável (composição, quantidades e origens) é, por isso, um primeiro passo essencial no processo de decisão e de seleção da tecnologia/opção de tratamento. A política europeia assenta numa tendência para o desenvolvimento da deposição e recolha seletiva dos biorresíduos, na compostagem ou digestão anaeróbia, sem negligenciar a promoção da compostagem doméstica ou comunitária.

Dois importantes fatores têm contribuído para um interesse crescente das práticas de compostagem. Um deles é a possibilidade da compostagem ser uma resposta para o problema, cada vez mais complexo e grave, da eliminação de resíduos. O outro fator prende-se com a progressiva preocupação decorrente do esgotamento dos solos agrícolas, resultado de práticas de agricultura intensiva. A compostagem é um sistema eficiente de transformação de resíduos biodegradáveis num produto estável que proporciona benefícios valiosos para o crescimento das plantas, restaurando ou aumentando a fertilidade dos solos.

Em geral, tem sido admitido que, se os processos de compostagem forem geridos de forma adequada, é assegurada a higienização do composto final. O binómio temperatura/tempo de exposição é referido como a condição mais importante na inativação dos agentes patogénicos. Um processo de compostagem deve, assim, cumprir requisitos mínimos de tempo e de temperatura para garantir a erradicação de organismos prejudiciais. Considera-se geralmente que, para obter taxas de decomposição eficazes e rápidas, a temperatura não deve exceder os 55-60 °C. No entanto, para

estas temperaturas não é garantida a destruição térmica dos microrganismos potencialmente patogénicos.

A utilização de certos subprodutos de origem animal (SPOA) em processos de compostagem pode representar um risco para a saúde humana e animal, pelo que o seu tratamento ou eliminação exigem, hoje, um controlo bastante rigoroso. No âmbito da UE foi desenvolvida regulamentação para este fluxo, de forma a garantir a segurança alimentar e saúde animal nos EM, instituindo regras para minimizar o risco de contaminantes patogénicos e melhorar a rastreabilidade dos SPOA.

A razão para a validação de um processo industrial de compostagem liga-se com o facto da capacidade do mesmo para inativar agentes patogénicos não poder ser só comprovada pela análise da presença ou ausência de indicadores (bacterianos, virais, fúngicos ou parasitários) no produto final. Agentes patogénicos ou outros indicadores biológicos podem estar ausentes no produto final, por diversas razões. Os microrganismos podem estar ausentes nas matérias-primas ou apenas presentes em número reduzido, os métodos existentes para re-isolamento dos organismos alvo podem ser de baixa sensibilidade (por exemplo, devido a procedimentos de enriquecimento ineficientes para a matriz investigada) ou a quantificação do indicador pode ser tecnicamente impossível devido aos efeitos inibidores sobre a matriz (por exemplo, vírus). A validação de processos biodegradativos, nomeadamente, o grau de higienização durante a compostagem, pode ser verificada através da inoculação ativa e monitorização de organismos indicadores durante o respetivo processo.

## **1.2 OBJETIVO E ESQUEMA CONCEPTUAL DO TRABALHO**

Este trabalho teve como objetivo contribuir para consolidar o entendimento da compostagem de resíduos biodegradáveis como um pilar estratégico na gestão de resíduos, proporcionando a reciclagem de nutrientes para as plantas. Mostrar a compostagem como um tratamento térmico de higienização de materiais orgânicos e como tais procedimentos podem ser usados como barreira para minimizar a transmissão de organismos patogénicos para os seres humanos ou animais foi o principal desiderato.

Pretendeu-se com esta dissertação efetuar uma pesquisa das diversas metodologias, e a sua aplicação à escala industrial, de validação dos parâmetros de transformação alternativos em uso em unidades de compostagem com processamento de subprodutos animais, devendo o resultado final traduzir uma efetiva redução dos riscos biológicos, suportada nos princípios da metodologia HACCP e cumprindo os requisitos expressos no Regulamento (CE) n.º 1069/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, que define as regras sanitárias relativas a subprodutos animais e produtos derivados não destinados ao consumo humano e do Regulamento (UE) n.º 142/2011 da Comissão, com as alterações recentemente introduzidas pelo Regulamento (UE) n.º 2015/9.

Em simultâneo fez-se uma pesquisa e análise de literatura científica sobre temas que suportam todo o trabalho experimental, nomeadamente, fundamentos e fatores críticos do processo de compostagem, inativação e sobrevivência de microrganismos patogénicos de animais e seres humanos durante a compostagem de materiais orgânicos e a sua dependência a diversos fatores físico-químicos, considerações sobre subprodutos animais, imposições legais e metodologia HACCP.

Os objetivos específicos foram, designadamente:

- i. avaliar diferentes estratégias para a determinação da qualidade sanitária da compostagem em escala industrial;
- ii. determinação dos requisitos mínimos (relação tempo-temperatura) necessários para uma destruição suficiente de um organismo indicador;
- iii. avaliar o uso de *Enterococcus faecalis* e parvovírus como organismos indicadores de validação de parâmetros de transformação alternativos para processos de compostagem;
- iv. determinar, em ensaio experimental, a eficácia de higienização de uma mistura contendo SPOA submetida a um processo de compostagem (sistema multi-túnel) com base na taxa de redução microbiológica de *Ent. faecalis* após 24, 36 e 48 horas de tempo de exposição, a uma temperatura média de 60 °C;
- v. investigar e verificar a potencial reativação de *Ent. faecalis* no composto produzido a partir de misturas com subprodutos animais.

Na preparação deste trabalho foram reunidas diversas comunicações científicas, abrangendo variadas, mas interligadas, áreas e disciplinas (microbiologia, tecnologia de compostagem, avaliação e gestão de risco, etc.). Referências adicionais foram identificadas através da leitura da literatura selecionada, efetuando-se a posterior pesquisa e análise dos estudos citados.

A estrutura conceptual definida para a monografia, composta por capítulos dedicados a cada uma das temáticas alvo de estudo, mas garantindo uma associação e continuidade entre os mesmos, considerou-se o formato mais acomodado para expor, quer o trabalho de pesquisa bibliográfica, elemento fundamental desta tese, quer a componente prática realizada e que teve por objetivo verificar e validar os preceitos teóricos recolhidos.

A tese é composta por sete capítulos, sendo os capítulos 2 a 5 dedicados ao processo de compostagem, inativação de agentes patogénicos, subprodutos de origem animal, análise de perigos e avaliação de risco, respetivamente. O capítulo 6 compreende a descrição do trabalho executado no âmbito da validação dos parâmetros de transformação alternativos da CVO, incluindo uma sucinta descrição da instalação, a metodologia analítica e o procedimento experimental utilizados, bem como os resultados obtidos nos ensaios efetuados. O capítulo 7 refere-se às conclusões e constatações resultantes do trabalho desenvolvido, limitações do estudo e uma reflexão sobre possíveis perspetivas futuras que o tema merece e proporciona. Constituem também parte integrante da

monografia os Apêndices I e II, respetivamente, Central de Valorização Orgânica da Lipor e Conjunto de dados de suporte ao processo de validação.

## CAPÍTULO 2 – COMPOSTAGEM

### 2.1 ENQUADRAMENTO

Desde os anos 70 tem havido uma aposta no desenvolvimento de novas estratégias, processos e tecnologias de compostagem e na otimização dos sistemas existentes, no contexto de um mercado em expansão para a valorização orgânica de materiais (Schuchardt, 2005). Entre as razões, para tal evolução, podemos enumerar o aumento dos custos de deposição nos aterros sanitários, requisitos mais exigentes de proteção ambiental, bem como todo um conjunto recente de ordenamento legal para o setor dos resíduos. A constatação de que os recursos são limitados, conceitos como sustentabilidade e economia circular (*o resíduo como um recurso*) proporcionaram também impulsos preponderantes neste domínio. Em complemento, nas décadas mais recentes tem-se verificado um aumento da sensibilização por parte dos cidadãos para as questões associadas aos resíduos, sendo a compostagem alvo de um interesse renovado e crescente como forma de enfrentar os desafios atuais associados à gestão dos resíduos. Os benefícios ambientais resultantes do desvio dos materiais biodegradáveis dos aterros incluem a redução das emissões de metano (um poderoso gás de efeito de estufa) e a redução da produção de lixiviados. Do ponto de vista de uma perspetiva de ciclo de vida, a produção de compostos, de qualidade, é também um fator relevante.

A produção total anual de biorresíduos na UE ascende a 118-138 milhões de toneladas, dos quais 88 milhões de toneladas são provenientes dos resíduos urbanos e 30-50 milhões de toneladas procedentes de fontes industriais, tais como processamento de alimentos (COM(2010)235 final). Na UE, os biorresíduos constituem cerca de 30% - 40%, podendo variar entre 18% até 60%, do total dos resíduos urbanos. Em Portugal, o fluxo de biorresíduos e os resíduos verdes (recolhidos em separado) constituem cerca de 41% do total dos resíduos urbanos produzidos, pelo que o desvio da matéria orgânica dos aterros é essencial para atingir as metas nacionais e comunitárias.

Os biorresíduos presentes nos RU compreendem dois principais fluxos: resíduos verdes de parques, jardins, etc. e os resíduos de cozinha, sendo que os primeiros apresentam teores de humidade entre 50% e 60% e são ricos em lenhina e celulose, enquanto que os resíduos de cozinha não contêm madeira e têm teores de humidade que podem ascender a 80%. No conjunto dos biorresíduos incluem-se ainda os resíduos de mercados e resíduos da restauração, resíduos florestais (casca e aparas de madeira), resíduos agrícolas (excrementos de animais domésticos, palha, resíduos resultantes do crescimento de produtos hortícolas, etc.), resíduos da indústria alimentar e de bebidas e lamas de ETAR.

A atenção dada ao fluxo biodegradável presente nos resíduos tem, por isso, sido intensificada. A nível europeu a recuperação de matéria orgânica por compostagem tem crescido a uma taxa anual

média de 5,3% entre 1995 e 2013, sendo que a reciclagem e compostagem, possibilitaram a valorização de 42% do material orgânico presente nos resíduos em 2013 (Eurostat, 2013).

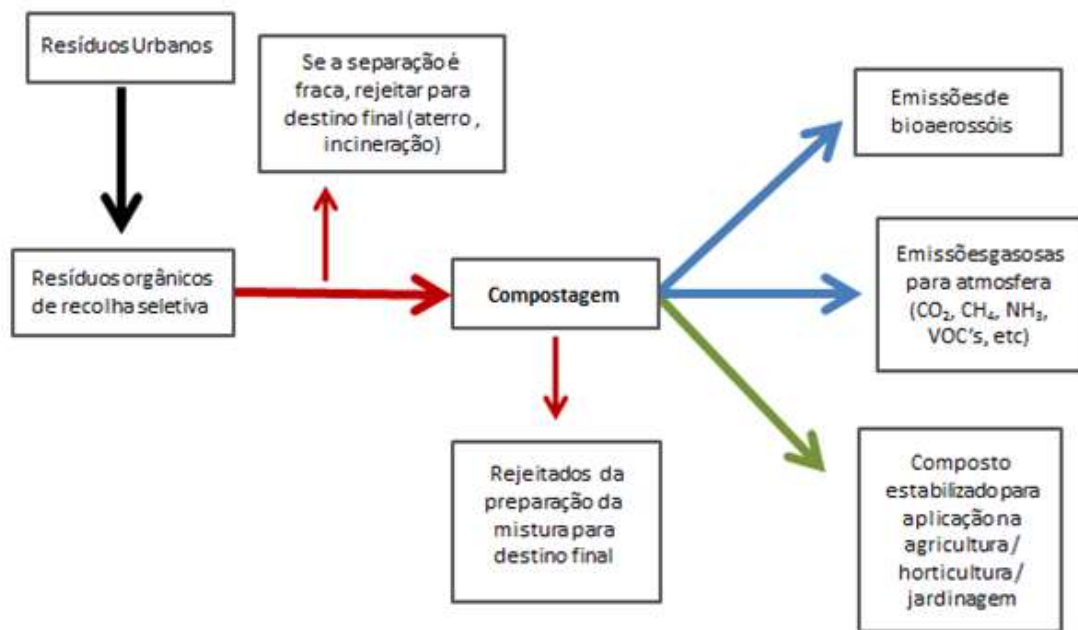
Desde que o Homem começou a plantar para colher os alimentos necessários, também associou os resíduos daí resultantes com a fertilidade do solo e as colheitas. A utilização de resíduos para melhorar a fertilidade do solo pode ter sido, assim, um fator importante que contribuiu para a sobrevivência de algumas das civilizações antigas (Gotaas, 1956). A compostagem é uma prática ancestral, largamente disseminada ao longo dos tempos e em diferentes regiões geográficas, como forma de assegurar a redução do volume e a estabilização dos resíduos orgânicos produzidos, possibilitando a continuidade do ciclo biológico ao devolver ao solo a matéria orgânica.

A compostagem pode ser definida como a decomposição biológica, em condições aeróbias, da matéria orgânica, realizada por uma população microbiana composta por várias populações. Os produtos resultantes da decomposição aeróbia são dióxido de carbono, água, minerais e matéria estabilizada (composto).

A compostagem proporciona um conjunto de contributos atrativos (Hogg *et al*, 2002) na estratégia de gestão dos resíduos urbanos, nomeadamente:

- tecnologia de tratamento aceite e reconhecida pelo público;
- contribui para a redução da emissão de gases com potencial efeito para o aquecimento global (GEEs);
- contribui positivamente para alcançar as metas de reciclagem;
- permite uma redução significativa de volume e massa, reduzindo a quantidade de materiais que vulgarmente são encaminhados para aterro sanitário, facilitando a operação destes, pois diminui a toxicidade dos lixiviados;
- contribui para a redução da quantidade de resíduos a encaminhar para incineração;
- a produção de compostos tem aplicações importantes quer como condicionador de solos, fazendo face à erosão, aumento da diversidade microbiológica, quer como fonte de matéria orgânica, enriquecendo os solos em húmus e nutrientes, melhorando a qualidade das terras de cultivo;
- os microrganismos presentes no composto desempenham um papel importante na proteção das culturas agrícolas, competindo com os agentes patogénicos presentes no solo, promovendo a sua supressão e/ou controlo;
- os microrganismos presentes no composto atuam como agentes de biorremediação (biodegradação de compostos tóxicos e poluentes).

Na **Figura 2.1** apresenta-se esquematicamente os principais *inputs* e *outputs* da compostagem.



#### Legenda

- setas azuis representam saídas "negativas" (custos ambientais)
- seta verde representa "saída positiva" (benefícios ambientais)

**Figura 2.1** - Principais *inputs* e *outputs* da compostagem (Adaptado de Hogg *et al*, 2002)

## 2.2 FUNDAMENTOS DO PROCESSO

A compostagem é um processo biológico essencialmente aeróbio, durante o qual se realiza uma oxidação microbiológica acompanhada de estabilização de substratos orgânicos, sendo, pois, bastante complexa e onde intervêm fenómenos de natureza biológica, química e física. Estes fenómenos estão intimamente interligados e são influenciados por diversos fatores, destacando-se a temperatura, a humidade, o arejamento, a dimensão das partículas do substrato e o seu grau de biodegradabilidade e o teor em nutrientes (razão C:N) (Gomes, 2001). O aquecimento durante um processo de compostagem é determinado pelo teor de degradabilidade e energia dos substratos, disponibilidade de humidade e oxigénio, e modo de conservação de energia. Um material em compostagem constitui um sistema heterogéneo, no qual o substrato insolúvel se apresenta no estado sólido ou na forma particulada e a fase aquosa é limitada e está confinada à água intersticial associada ao substrato sólido.

Os microrganismos envolvidos dividem-se em dois grupos: bactérias, nomeadamente actinomicetes, e fungos. Embora não existam limites estritamente definidos, a atividade biológica pode ser resumida

em três estágios. Na primeira fase ocorre o consumo de açúcares facilmente disponíveis por bactérias provocando um aumento rápido da temperatura. O segundo estágio envolve a repartição de celulose por bactérias, designadamente actinomicetes; a última fase diz respeito à repartição das lenhinas mais duras por fungos durante a etapa de arrefecimento do composto. Os microrganismos encontram-se aderentes às superfícies do substrato sendo necessário ocorrer a hidrólise dos componentes químicos constituintes do sólido para que depois as células microbianas absorvam, através da membrana celular, o substrato solubilizado.

O metabolismo do substrato sólido pode ser conceptualmente descrito como uma sequência de episódios (Gomes, 2001):

- produção microbiológica de enzimas hidrolíticas extracelulares e seu transporte até à superfície do substrato;
- hidrólise das moléculas de substrato em moléculas de baixo peso molecular, gerando uma fração solúvel;
- transporte difusivo das moléculas de substrato solubilizado até às células;
- transporte difusivo do substrato dentro das células microbiológicas, dos flocos, ou do *micelium*;
- transporte difusivo do oxigénio através dos espaços vazios entre as partículas e na camada limite gasosa;
- transporte difusivo do oxigénio através da interface gás-líquido;
- transporte difusivo do oxigénio na fase aquosa aderente ao substrato sólido;
- transporte difusivo do oxigénio dentro das células microbiológicas, dos flocos, ou do *micelium*;
- metabolismo aeróbio do substrato e do oxigénio no interior da célula microbiana.

Pressupondo que estes eventos ocorrem em série, qualquer um deles poderá ser limitante da cinética global do processo.

No caso da opção pela compostagem como processo tecnológico de tratamento de resíduos urbanos, a chave do sucesso está no controlo rigoroso, desde a fase inicial (seleção da matéria orgânica) até ao término do processo, uma vez que eventuais falhas podem resultar em numerosos constrangimentos ambientais e sociais. Neste sentido, devem ser minimizadas as emissões para o ambiente circundante, particularmente para o ar e água. As emissões para o ar são principalmente dióxido de carbono e vapor de água, podendo existir, contudo, compostos orgânicos voláteis (COVs), amónia e bioaerossóis. Muitos dos COVs possuem um odor desagradável, o que pode resultar num problema público, que muitas vezes tem mais impacto do que uma questão ambiental, condicionando toda uma estratégia de gestão; todavia, estes gases podem ser controlados através de sistemas de biofiltração, mitigando assim os efeitos adversos que poderiam existir.

### 2.3 MICROBIOLOGIA DO PROCESSO

A compostagem é um processo microbiológico em que uma sucessão de populações microbianas mistas é responsável pela decomposição da matéria orgânica. A descrição dos microrganismos que participam no processo de compostagem é complexa, uma vez que as populações e comunidades mudam continuamente em função da evolução da temperatura, disponibilidade de nutrientes, concentração de oxigénio, teor de água e pH no decurso do processo. Assim, cada população é adequada para o ambiente produzido pela anterior.

Uma grande variedade de microrganismos aeróbios mesófilos, termófilos e termotolerantes (incluindo bactérias, como os actinomicetes, e fungos, tais como leveduras e bolores) têm sido amplamente relatados para o processo de compostagem. O conhecimento das comunidades microbianas presentes nas diferentes fases do processo permite compreender a microbiologia associada ao sistema de compostagem (Partanen *et al.*, 2010), sendo fundamental para encontrar novos métodos, impulsionando a compostagem e melhorando o produto final.

Em condições aeróbias, a temperatura é um fator importante que determina o tipo de microrganismos, a diversidade de espécies e a taxa de atividade metabólica. Na fase inicial do processo de compostagem (temperaturas entre 20-40 °C) fungos mesófilos/termotolerantes, principalmente leveduras e bolores, e bactérias produtoras de ácido são os elementos ativos dominantes responsáveis pela degradação dos resíduos orgânicos.

Os actinomicetes desenvolvem-se muito mais lentamente do que a maioria das bactérias e fungos, sendo competidores ineficazes quando os níveis de nutrientes são altos. Os microrganismos mesófilos estão mortos ou pouco ativos durante a fase inicial termofílica, onde o número e diversidade de espécies de bactérias, mormente actinomicetes, e fungos termófilos/termotolerantes aumentam. A temperatura ideal para fungos termófilos é de 40-55 °C, com um máximo a 60-62 °C. Os fungos são mortos ou estão presentes, de forma transiente, como esporos, para temperaturas superiores a 60 °C. Os actinomicetes termófilos são geralmente mais tolerantes a altas temperaturas do que os fungos e seu número e espécies aumentam acentuadamente na gama de temperaturas de crescimento ideais de 50-55 °C. Os actinomicetes desempenham um papel importante na degradação de polímeros naturais depois de outras bactérias e fungos terem consumido as frações facilmente degradáveis (Ryckeboer *et al.*, 2003). No caso de temperaturas superiores a 60 °C, o seu número e a diversidade de espécies diminui e a sua importância no processo de degradação torna-se negligenciável. As bactérias termófilas são muito ativas no patamar de 50-60 °C e para temperaturas superiores a 60 °C, o processo de degradação é realizado essencialmente por estes microrganismos (Beffa *et al.*, 1995).

Especial atenção tem sido dada à definição de patamares ótimos de temperatura para a degradação mais eficaz da matéria orgânica. No entanto, e mesmo tendo por base o extenso trabalho científico desenvolvido nesta área, não parece existir, ainda, consenso sobre como definir e gerir as condições operacionais mais adequadas. Tal discussão está, em grande parte, relacionada com necessidades distintas do processo e que podem ser brevemente resumidas, para as diferentes gamas de temperatura, conforme se apresenta a seguir:

- Higienização > 55-60 °C
- Biodegradação máxima [45-55 °C]
- Máxima diversidade microbiana [35-40 °C]

Dos dados anteriores, constata-se que temperaturas acima de 55 °C são importantes para maximizar a higienização. Enquanto isso, temperaturas entre 45 e 55 °C permitem otimizar a taxa de degradação, sendo que, entre 35 e 40 °C se verifica o aumento da diversidade microbiana (Sunar *et al.*, 2010). Em complemento, Wilkinson (2007) destacou a função temperatura/tempo de exposição como a condição mais importante na inativação dos agentes patogénicos. A diversidade microbiana é um pré-requisito fundamental para um processo de compostagem adequado.

#### 2.3.1 BACTÉRIAS

As bactérias são organismos unicelulares, não possuindo núcleo, sendo encontradas numa ampla gama de ambientes e condições ambientais (Hultman, 2009). As suas dimensões muitíssimo reduzidas conferem-lhes uma elevada razão área/volume, o que permite uma rápida transferência de substâncias solúveis para a célula e elevadas taxas de atividade metabólica. Algumas bactérias são capazes de produzir formas esporuladas, que são mais resistentes ao calor, radiação e desinfeção química. Com base na estrutura/composição em peptidoglicano da parede celular, as bactérias podem ser divididas em dois grandes grupos, Gram positivo e Gram negativo. Os actinomicetes são principalmente Gram positivo, estando largamente distribuídos na natureza, habitando o solo e participando na degradação da matéria orgânica.

#### 2.3.2 FUNGOS

Em contraste com as plantas verdes, os fungos são incapazes de assimilar CO<sub>2</sub> como fonte de carbono. Os fungos e as bactérias utilizam substratos semelhantes, fazendo com que os dois grupos sejam competitivos entre si (ambos conseguem usar substratos sólidos, produzindo enzimas extracelulares hidrolisantes). Os fungos são menos afetados pelo baixo teor de humidade do meio, conseguindo suportar uma larga gama de valores de pH e geralmente apresentam uma menor necessidade de azoto em relação às bactérias (Gomes, 2001).

#### 2.3.3 VÍRUS

Constituem os sistemas biológicos mais pequenos, só se reproduzindo na célula hospedeira e diferem dos microrganismos unicelulares na sua organização interna, composição química e características de crescimento. Os vírus podem afetar os animais, as plantas e todos os microrganismos.

## 2.4 FATORES QUE INFLUENCIAM O PROCESSO

A complexidade primordial da compostagem em larga escala está no controlo do processo, de modo a minimizar as emissões para o ambiente e conseguir uma produção otimizada de composto de qualidade. Assim, é importante identificar os fatores limitantes da taxa de decomposição e determinar o modo como interferem no controlo do processo de compostagem. As causas que podem condicionar o processo estão associadas aos diferentes ambientes, ou seja, biológico (microbiota), químico (disponibilidade de nutrientes, pH) e físico (temperatura, humidade, arejamento e porosidade).

### 2.4.1 AMBIENTE BIOLÓGICO

Relativamente ao ambiente biológico e, sendo o processo de compostagem altamente ativo em termos de predominância de grupos de microrganismos, os resíduos orgânicos possuem uma vasta e heterógena comunidade microbiana, assegurando a viabilidade do processo de degradação biológica. Na compostagem de resíduos orgânicos ocorre, ao longo do tempo, uma sucessão de populações de bactérias e fungos, resultado da modificação contínua da temperatura e do substrato. A temperatura aumenta proporcionalmente com a atividade biológica e, por isso, as condições mesófilas são rapidamente substituídas por estádios termófilos. Como o processo é dinâmico e qualquer grupo individual de organismos pode sobreviver numa larga gama de condições ambientais, uma população começa a emergir quando outra está no seu auge e uma outra encontra-se a desaparecer. Cada grupo microbiológico atinge o seu pico populacional quando as condições ambientais lhe são inteiramente favoráveis.

Os principais microrganismos envolvidos na degradação da matéria orgânica são bactérias e fungos. As bactérias possuem um papel decisivo durante a fase termófila, enquanto que os fungos têm como principal função a decomposição dos materiais de difícil decomposição como sejam as substâncias ricas em celulose (principal componente estrutural das células das plantas) e lenhina (Gomes, 2001).

### 2.4.2 AMBIENTE QUÍMICO

#### 2.4.2.1 *RELAÇÃO C:N*

Para manter a reprodução e assegurar as funções metabólicas, todos os organismos necessitam de uma quantidade mínima dos elementos, a partir dos quais é composta a sua matéria celular - macronutrientes. Adicionalmente, necessitam de uma quantidade mínima de certos elementos que entram na atividade metabólica como fonte energética ou como constituintes das enzimas e que não

contribuem necessariamente para o aumento da massa dos organismos designando-se por micronutrientes.

Decorre da própria definição de compostagem, como processo biológico, que os elementos C e N são fundamentais, pois constituem componentes das células microbianas presentes no processo. O carbono, além de constituinte do material celular, é a fonte de energia. O azoto é utilizado na síntese de proteínas, sendo ainda indispensável no processo de humificação, sem o qual não se formam substâncias húmicas. Quando a relação C:N é muito baixa, ou seja, o azoto é muito abundante relativamente ao carbono, ocorre uma perda excessiva do azoto através da volatilização de amónia, especialmente em situações de pH e temperaturas elevados, arejamento forçado e/ou revolvimento. Razões C:N inferiores a 25 retardam a decomposição da matéria orgânica, favorecem a perda de azoto e potenciam a produção de odores desagradáveis. Quando a razão inicial de C:N é superior a 35 os microrganismos passam por diferentes ciclos para assegurar a oxidação do carbono excedente até ser atingida uma razão C:N adequada para o seu metabolismo. Pela sua importância no processo de compostagem, a relação C:N tem sido objeto de pesquisa por parte de muitos autores, que propuseram relações ótimas para a compostagem conforme se resume na **Tabela 2.1**.

**Tabela 2.1** - Relações de C:N ótimas para o processo de compostagem (Russo, 2003)

Relação C:N	Autor	Ano
30-35/1	Gotaas, H. B.	1959
30/1	Haug, R.T	1980
20-30/1	Golueke, C.G	1981
25/1	Bertoldi <i>et al.</i>	1983
30-40/1	Pereira Neto, J.T	1989
25-40/1	Richard, T. L.	1992

Mais recentemente Beffa (2002) mencionou que a razão C:N da mistura inicial deve estar compreendida entre 25 e 35 para garantir uma boa degradação sem limitação de nutrientes. Na compostagem observa-se um decréscimo na razão C:N ao longo do processo.

#### 2.4.2.2 PH

Pode dizer-se que todo o material com valores de pH numa larga gama (de 3 a 11) pode ser compostado (Gomes, 2001), apesar de valores entre 5,5 e 8 serem considerados os mais adequados. Enquanto as bactérias preferem um pH próximo do neutro (6 - 7,5), os fungos desenvolvem-se melhor em ambientes ácidos. Geralmente o pH começa a descer no início do processo de compostagem como consequência da atividade das bactérias formadoras de ácidos. Posteriormente o valor de pH volta a subir principalmente devido à decomposição de proteínas, sendo que no final do processo o material apresenta-se com um valor de pH ligeiramente alcalino.

### 2.4.3 AMBIENTE FÍSICO

O ambiente físico envolve o controlo de parâmetros como a temperatura, humidade, porosidade e arejamento.

#### 2.4.3.1 TEMPERATURA

A compostagem é o resultado das ações da comunidade de microrganismos que convertem a matéria facilmente degradável em formas mais estáveis, compostos húmicos e produtos inorgânicos, verificando-se a libertação de calor como consequência do metabolismo aeróbio (Gomes, 2001).

O processo de compostagem pode ser dividido em três etapas principais (Hassen *et al.*, 2002): uma fase rápida de aquecimento (mesófila), uma fase termófila e uma fase de arrefecimento. Durante a fase termófila pode ocorrer um excesso de produção de calor que, se não for removido, faz com que sejam atingidas temperaturas superiores a 60 °C, afetando seriamente a taxa de decomposição da matéria orgânica como resultado da diminuição da atividade microbiana. A temperatura influencia a velocidade de degradação da matéria orgânica através da atividade microbiana até certo valor, a partir do qual é prejudicial, porquanto elimina grande parte dos microrganismos (Beffa, 2002). Para temperaturas superiores a 60 °C resulta um efeito brusco na redução da diversidade das espécies, sendo que acima de 65 °C a maioria das espécies começa a perder a sua forma vegetativa e a assumir a forma de esporo, na qual pouca atividade ocorre. As espécies não formadoras de esporos perdem viabilidade. Embora um número reduzido de espécies ainda apresente atividade metabólica acima de 70 °C, a sua contribuição torna-se insignificante para a velocidade global do processo (Gotaas, 1956).

O trabalho científico desenvolvido por Nakasaki *et al.* (1985) permitiu concluir que os actinomicetes termófilos se desenvolvem mais lentamente do que a maioria das bactérias e fungos e, para elevados níveis de nutrientes, exercem fraca competição. No entanto, como os actinomicetes são mais tolerantes a elevadas temperaturas tornam-se mais ativos na parte final da fase termófila, quando as outras bactérias entram em declínio por falta de nutrientes e pelo stresse criado pela elevada temperatura. Nakasaki *et al.* (1985) concluíram ainda que os fungos raramente são encontrados na fase termófila com temperaturas da ordem dos 60 °C, pois a temperatura ótima para o seu crescimento situa-se entre os 45-50 °C.

As temperaturas termófilas atuam como um robusto agente de higienização, uma vez que a maior parte dos agentes patogénicos é rapidamente eliminada por efeito direto do calor sobre os constituintes vitais, tais como o ADN e proteínas. O parâmetro temperatura é frequentemente usado para controlar a eficiência do processo, sendo que os sistemas modernos de compostagem envolvem condições termófilas em, pelo menos, uma etapa do processamento, de forma a ser possível eliminar os microrganismos patogénicos e garantir a higienização do composto. A temperatura é um parâmetro crítico do processo, pois pequenas variações podem afetar, de forma decisiva, a atividade biológica e a biomassa.

#### 2.4.3.2 HUMIDADE

Os microrganismos assimilam os nutrientes através das suas paredes celulares semipermeáveis quando aqueles se encontram na forma dissolvida. Para que seja possível a atividade metabólica, é necessário que o meio de crescimento possua uma certa humidade, de modo que o material biológico permaneça coberto por um filme de água. A presença de água é indispensável para as necessidades fisiológicas dos microrganismos e para que ocorram as reações bioquímicas de decomposição da matéria orgânica (Gomes, 2001).

O teor adequado de humidade para a compostagem é função da capacidade de arejamento e da natureza estrutural do material a ser compostado, uma vez que o oxigénio é fornecido aos microrganismos pela circulação de ar através dos interstícios entre as partículas. Se os espaços forem cheios com água, o ar é removido e deixa de haver oxigénio disponível para os microrganismos. Como resultado, a massa de resíduos torna-se anaeróbia, o processo de compostagem é retardado, produzindo-se odores desagradáveis. O tamanho dos interstícios é determinado pelo tamanho das partículas do material e a sua estabilidade é definida pela capacidade de resistirem à compactação e conseqüente colmatação dos interstícios

Num processo de compostagem o intervalo de humidade (Russo, 2003) deverá estar compreendido entre 40 e 60%, sendo que no início do processo deverá estar mais próximo dos 60%. Durante o desenrolar do processo o teor de humidade não deverá descer para valores inferiores a 40%, de forma a não ser um fator limitante à compostagem. Para teores de humidade inferiores a 30%, a escassez de água torna o ambiente hostil para os microrganismos, inibindo a sua atividade biológica. Por outro lado, quando os teores de humidade sobem acima dos 65% ocorre também uma redução na eficiência do processo resultante de uma maior compactação dos materiais, impedindo o ar de circular e levando à formação de zonas anaeróbias (Ryckeboer *et al.*, 2003).

#### 2.4.3.3 POROSIDADE

O conteúdo em água e a presença ou ausência de uma estrutura porosa determinam o curso dos acontecimentos microbiológicos nos resíduos. A porosidade depende do tamanho das partículas e estrutura física do resíduo, parâmetros que são importantes para manter as condições aeróbias durante a compostagem, pois refletem a permeabilidade da massa orgânica ao ar.

#### 2.4.3.4 AREJAMENTO

A compostagem é, por definição, um processo aeróbio, pelo que o fornecimento de oxigénio assume especial relevância. O oxigénio existente permeia através dos vazios entre as partículas individuais que compõem o material sujeito a compostagem. Os níveis de oxigénio na faixa de 13 a 18% são os desejáveis, devendo ser tomadas ações corretivas quando o oxigénio cai para valores inferiores a 10% (Government of Canada, 2013).

O arejamento é um dos principais fatores que coordenam o processo de compostagem ao assegurar a disponibilização do oxigênio necessário à atividade biológica, removendo a umidade da massa em compostagem e contribuindo para extrair o calor, evitando assim temperaturas excessivas. Durante o arejamento, o oxigênio pode ser fornecido através de sistemas de arejamento passivo, agitação mecânica ou arejamento forçado.

No caso da ventilação forçada, o oxigênio pode ser disponibilizado por sucção (arejamento negativo) ou por insuflação (arejamento positivo). Relativamente às diferenças entre a ventilação forçada por sucção e por insuflação, verifica-se que a insuflação de ar é mais eficiente na remoção de calor e vapor de água, conduzindo a uma degradação mais rápida e a um produto final de melhor qualidade. A insuflação de ar possui ainda outras vantagens adicionais, evitando a colmatação dos orifícios das condutas adutoras de ar, impedindo a acumulação de líquido nessas condutas, permitindo uma distribuição mais uniforme das temperaturas, favorecendo a porosidade da massa em compostagem e tornando o fluxo de ar mais eficiente.

## **2.5 COMPOSTO**

O composto é o principal produto da compostagem, o qual é definido (Sunar *et al.*, 2009) como um produto estabilizado, higienizado, compatível e benéfico para o crescimento das plantas. O composto apresenta geralmente cor escura, cheiro característico a terra, que se assemelha ao solo e com valor nutritivo para as plantas. A produção de composto a partir de resíduos orgânicos deve ser a primeira opção para reciclagem desses materiais.

A estabilidade do composto é definida em termos da biodisponibilidade da matéria orgânica estando relacionada com a atividade microbiológica. A determinação das substâncias húmicas permite avaliar o grau de maturação da matéria orgânica através de índices relativos à sua quantidade e suas frações, isto é, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. A maturidade descreve a aptidão do composto para o crescimento das plantas e tem sido associada ao grau de humificação (Schuchardt, 2005). Compostos instáveis são caracterizados por elevados teores de matéria orgânica facilmente degradável, podendo ocasionar fitotoxicidade, deficiência em azoto e oxigênio e formação de odores desagradáveis. Tem sido reconhecido que as substâncias húmicas presentes no composto desempenham um papel importante nas propriedades físico-químicas do solo, melhorando a estrutura, são uma fonte de nutrientes, fixadores de nutrientes minerais (graças à sua elevada capacidade de troca catiónica) e exercendo um efeito positivo na atividade da microbiota.

Como corretivo para a agricultura, paisagismo e aplicações hortícolas, o composto melhora as propriedades do solo no qual seja aplicado. Os solos argilosos beneficiam da inclusão de composto, tornando-se mais friáveis, promovendo uma maior penetração das raízes das plantas e drenagem. Os

solos porosos e arenosos adquirem uma melhor capacidade de retenção da água e dos nutrientes. Os solos agrícolas sujeitos a depleção da matéria orgânica e a práticas de cultivo intensivas apresentam melhorias na conservação da água, através de uma melhor retenção de nutrientes no solo, menor compactação devido ao incremento da estrutura e, relevante, um aumento da produtividade. No caso dos solos hortícolas, além das melhorias referidas para os solos agrícolas, uma vantagem decorrente do uso do composto prende-se com a libertação, ao longo de vários períodos de crescimento, de nutrientes biodisponíveis. A libertação lenta de nutrientes é mais consistente com as necessidades de absorção pelas plantas, permitindo também reduzir a lixiviação do azoto, que é uma importante preocupação ambiental associada ao uso de outros tipos de fertilizantes convencionais e condicionadores do solo. Diversas pesquisas científicas têm demonstrado que utilização de compostos pode suprimir a presença organismos causadores de doenças transmitidas através do solo (Government of Canada, 2013).

Como sinopse, os benefícios associados ao uso do composto traduzem-se na mitigação da erosão dos solos, incremento da produtividade, supressão de organismos causadores de doenças veiculadas através do solo, prevenção da perda da camada superior do solo, condições mais favoráveis para o crescimento das raízes, aumento da tolerância à seca e redução da biodisponibilidade de metais pesados. O composto é, pois, um produto extremamente benéfico apresentando uma multiplicidade de aplicações. Dependendo do grau de maturidade, estabilidade e qualidade (Guardabassi *et al.*, 2003), o composto pode ser usado em vinhas, agricultura e horticultura, reflorestamento, preparação de campos desportivos, manutenção de parques e reabilitação de aterros.

## CAPÍTULO 3 – INATIVAÇÃO DE AGENTES PATOGENICOS POR COMPOSTAGEM

### 3.1 ENQUADRAMENTO

Na sociedade atual uma grande quantidade de resíduos biodegradáveis é produzida, incluindo SPOA. Estes resíduos contêm nutrientes úteis e é, portanto, desejável que possam ser reciclados na cadeia alimentar por aplicação em terras aráveis. No entanto, devido ao risco da presença de microrganismos patogénicos, a higienização de resíduos orgânicos antes da sua utilização como fertilizante ou condicionador do solo é necessária para evitar a transmissão de agentes nocivos para o Homem e animais. O risco da presença de organismos patogénicos nos resíduos orgânicos varia dependendo das matérias-primas que vão ser processadas. Frações, tais como resíduos de jardim não representam um risco tão elevado como resíduos de matadouros. Microrganismos, tais como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes*, têm sido detetados em resíduos urbanos, lamas de depuração e chorumes (Singh, 2011). Por conseguinte, a composição do material inicial deve ser tida em consideração quando se avaliam os riscos associados à reciclagem da matéria orgânica.

Alguns agentes patogénicos, tais como vírus e parasitas, não se podem reproduzir fora de um hospedeiro, podendo sobreviver durante um longo período de tempo num material sem aumentar de número. Ao utilizar a matéria assimilável dos resíduos como substrato, outros patogénicos (por exemplo, bactérias e fungos) podem reproduzir-se e aumentar em número ao longo do tempo. Para este último grupo torna-se necessário, por isso, prever quais as condições durante o processo de compostagem que possibilitem a redução dos microrganismos, além de impedir ainda o seu crescimento e multiplicação no produto final (Bertoldi *et al.*, 1988).

A compostagem é uma tecnologia de redução de organismos patogénicos devidamente consolidada (Wilkinson, 2007), assegurando o controlo, para níveis aceitáveis, de vírus patogénicos, quase todas as bactérias, fungos, protozoários e ovos de helmintes. As exceções estão relacionadas com bactérias formadoras de endósporos e priões, como os responsáveis pela encefalopatia espongiiforme bovina. Contudo, a eficácia de higienização depende também do tipo de processo de compostagem utilizado, pois diversos parâmetros, tais como, teor de humidade, composição da mistura inicial e arejamento, influenciam o próprio processo e, conseqüentemente, os perfis de temperatura obtidos. Vários fungos patogénicos têm sido encontrados nos resíduos orgânicos. No entanto, os fungos podem causar principalmente problemas de saúde através do contacto direto da pele ou por inalação (Elving, 2009) e, portanto, são mais preocupantes para os trabalhadores de instalações que manipulam os resíduos do que para o processo de compostagem.

Muitos organismos patogênicos são conhecidos por serem capazes de sobreviver por longos períodos de tempo no solo após aplicação de produtos orgânicos. A quantidade total de agentes patogênicos que entram no ambiente pode ser eventualmente reduzida devido a fatores ambientais, por exemplo, raios ultravioleta (Elving, 2012). Contudo, para reduzir o risco de transmissão de doenças para os animais em pastoreio são necessárias estratégias de mitigação controladas, como sejam os tratamentos de higienização. Quando o composto é aplicado no solo, as populações patogênicas são expostas às propriedades homeostáticas do mesmo, existindo competição com os microrganismos indígenas do solo. O resultado é uma redução do número dos agentes patogênicos. Apesar da diminuição, existe a possibilidade de alguns desses microrganismos poderem alcançar o Homem em número razoavelmente elevado para causar doença ou toxinfecção alimentar (risco de transmissão direta de doença para os seres humanos que consomem alimentos de culturas contaminadas ou de transmissão indireta, através do consumo de alimentos de animais contaminados). Assim, é essencial que a quantidade de agentes patogênicos presentes no composto seja suficientemente baixa para assegurar o mínimo, ou mesmo nenhum, risco para a saúde e higiene humana (Bertoldi *et al.*, 1988).

### **3.2 PRINCIPAIS AGENTES PATOGENICOS PRESENTES NOS RESÍDUOS ORGÂNICOS**

Os RU, e os biorresíduos em especial, podem conter inúmeras populações de microrganismos patogênicos. No caso do presente trabalho dar-se-á particular destaque a *E. coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* e vírus.

As estirpes patogênicas e não patogênicas de *E. coli* podem estar presentes em materiais contaminados por fezes. As estirpes patogênicas tendem a estar presentes nas matérias fecais em quantidades muito menores do que as variedades não patogênicas. Estudos (Wichuk, McCartney, 2007) demonstraram que as estirpes de *E. coli* patogênicas representavam apenas uma pequena proporção (uma estimativa de 0,3%) do total da população de coliformes fecais. *Escherichia coli* O157:H7 foi relatada pela primeira vez em 1982 como um agente patogênico emergente de origem alimentar transmitido dos animais para os seres humanos, durante uma investigação de diarreia sanguinolenta (colite hemorrágica), como resultado do consumo de carne de hambúrguer contaminada (Singh, 2011). *Escherichia coli* O157:H7, um bastonete Gram negativo, é um membro da família *Enterobacteriaceae*. Considerando que este patogênico pode ser alojado numa ampla gama de hospedeiros animais e expelido pelas fezes, torna-se importante pela sua capacidade de causar doença fatal nos seres humanos, mesmo em doses muito baixas. *Escherichia coli* O157:H7 está associada a carnes com contaminação fecal.

*Salmonella* spp. é outro importante conjunto de microrganismos patogênicos de origem entérica pertencente à família *Enterobacteriaceae*. São bastonetes Gram negativo que podem crescer em condições anaeróbias facultativas. A contaminação fecal de alimentos (carne e produtos frescos) e

água são importantes fontes deste patogénico. As infeções podem ser causadas por doses muito baixas, estando também dependente do serótipo, tipo de alimentos consumidos e o estado imunitário do hospedeiro. A presença no material fecal de animais saudáveis e sua capacidade de sobreviver no ambiente torna estes patogénicos relevantes na avaliação da segurança alimentar. *Salmonella* spp. têm sido referidas (Elving, 2009) como sendo capazes de crescer a temperaturas no patamar de 6 a 47 °C. *Salmonella* spp. são as mais frequentemente estudadas, porque ocorrem, amiúde, em diversas matérias-primas, provocam doenças graves com relativa frequência e são facilmente identificadas. *Salmonella* spp. são omnipresentes na natureza, sendo encontradas em alimentos (carne, frutas e legumes), água, solo, animais, estrumes, superfícies de uso doméstico e nos resíduos orgânicos. A natureza ubíqua das salmonelas demonstra que estão bem adaptadas para a sobrevivência no meio ambiente. Além disso, a estirpe W775 de *Salmonella* Senftenberg é descrita como a mais resistente ao calor dentro do seu género (De Clercq *et al.*, 2007).

Os enterococos fazem parte do grupo dos cocos Gram positivo, organizados individualmente, em pares ou cadeias curtas, são anaeróbios facultativos e patogénicos oportunistas, sendo a sua gama de hospedeiros os seres humanos, animais de estimação e pecuária. Estes microrganismos caracterizam-se pela sua capacidade de crescimento entre 10 °C e 45 °C, em pH alcalino, e serem relativamente resistentes às condições ambientais, podendo crescer e sobreviver em ambientes adversos. Os enterococos, além de estarem amplamente distribuídos na natureza, são um constituinte da microbiota normal do ser humano, tendo uma relação estreita com o trato gastrointestinal dos animais de sangue quente (*Ent. faecalis* e *Ent. faecium*).

Os vírus podem estar presentes nos resíduos orgânicos e incluem várias subclasses de enterovírus. No total, mais de 130 tipos de vírus entéricos podem estar presentes em materiais contaminados por fezes (Guardabassi *et al.*, 2003). Os agentes virais patogénicos apresentam doses infecciosas muito baixas (Wichuk, McCartney, 2007). O risco de transferência de vírus de animais para seres humanos e vice-versa é, na sua maioria, reduzido, uma vez que os vírus são muitas vezes hospedeiros específicos ou tecido-específicos. Os vírus são bastante resistentes a diferentes tipos de tratamento e condições ambientais hostis (Elving, 2012), por exemplo, o parvovírus e circovírus são muito resistentes ao calor.

O parvovírus pode infetar a maioria dos vertebrados causando uma variedade de doenças. Estes vírus foram isolados a partir de mamíferos, incluindo seres humanos, cães, gatos, roedores, porcos (Simpson *et al.*, 2002). Desde a descoberta do parvovírus bovino (PVB) nos anos 60, vários estudos serológicos (Sandals *et al.*, 1995) relataram a distribuição ubíqua de anticorpos para PVB. A patogenicidade de parvovírus, incluindo PVB, é função de uma pluralidade de fatores como a genética do vírus e do hospedeiro, a exigência de células em divisão ativa e a influência do estado de imunidade.

Os vírus de interesse no que se refere aos resíduos orgânicos (Elving, 2009) incluem o adenovírus, calicivírus, enterovírus, rotavírus e os vírus da hepatite A e E. Estes vírus não possuem uma estrutura com envelope, sendo, portanto, mais termorresistentes que os vírus envelopados. Existe uma escassez de informação sobre a sobrevivência dos vírus durante a compostagem, nomeadamente para vírus exóticos, como o vírus responsável pela doença da Febre Aftosa e o vírus da Peste Suína Clássica (Jones, Martin, 2003).

### 3.3 FATORES CRÍTICOS NA INATIVAÇÃO E RECRESIMENTO DE MICRORGANISMOS PATOGENICOS

A inativação de agentes patogénicos durante a compostagem é bastante complexa. Vários mecanismos são conhecidos por estarem envolvidos na inativação dos microrganismos patogénicos durante a compostagem, tais como a exposição ao calor, antagonismo microbiano (incluindo a produção de compostos antimicrobianos e parasitismo direto), produção de ácidos orgânicos e de amónia e competição por nutrientes (Wilkinson, 2007; Ceustermans *et al.*, 2007). A morte natural (devido às condições ambientais adversas do processo) e o estágio fisiológico dos agentes patogénicos, assim como o nível de humidade, são igualmente causas relevantes para a erradicação das populações patogénicas (Wichuk, McCartney, 2007; Singh, 2011), sendo, por isso, aspetos pertinentes na eliminação desses agentes.

Na **Tabela 3.1** resumam-se alguns dos fatores que influenciam a sobrevivência de microrganismos patogénicos, sendo que o seu conhecimento e entendimento aprofundados assumem um papel importante na conceção dos métodos de tratamento mais adequados.

**Tabela 3.1** – Fatores físico-químicos e biológicos que afetam o crescimento dos microrganismos (adaptado de Elving, 2009)

Fator	Reação
Temperatura	A maioria dos microrganismos sobrevivem bem a baixas temperaturas e morrem rapidamente a altas temperaturas (> 50 °C). Para assegurar a inativação em processos de compostagem são necessárias temperaturas entre os 55 - 65 °C para destruir todos os tipos de patogénicos (exceto esporos e priões) durante um determinado tempo (Haug, 1993). Para temperaturas mais baixas são necessários tempos de retenção maiores.
pH	Muitos microrganismos estão adaptados a pH neutro (7) e condições muito ácidas ou muito alcalinas aumentam a sua inativação.
Humidade	Em geral, a humidade é necessária para a sobrevivência de microrganismos e a secagem diminui o número de patogénicos.

Nutrientes/  
Microbiota

Se os nutrientes estão disponíveis e outras condições são favoráveis, as bactérias podem multiplicar-se no ambiente. Contudo, as bactérias entéricas adaptadas ao trato gastrointestinal não são capazes de competir com os organismos indígenas para nutrientes e espaço, limitando a sua capacidade de reprodução e sobrevivência no ambiente.

Outros fatores

Disponibilidade de oxigênio, tamanho das partículas e permeabilidade, presença de compostos químicos orgânicos e inorgânicos, amônia (NH<sub>3</sub>) quimicamente hidrolisada ou produzida por bactérias podem inativar outros organismos.

Embora diversos fatores estejam envolvidos na eliminação de agentes patogênicos, a temperatura é a única que pode ser quantitativamente medida e controlada (Bertoldi *et al.*, 1988). A temperatura é considerada o fator mais importante na inativação de agentes patogênicos e é comumente especificada pelas entidades reguladoras como um meio adequado para induzir a destruição dos organismos patogênicos. A recomendação geral para um processo de tratamento de higienização térmica prevê uma temperatura superior a 50 °C (Elving, 2012), mesmo se alguns organismos patogênicos são inativados facilmente a temperaturas mais baixas, tais como o vírus da influenza aviária (VIA) ou, por oposição, vários agentes patogênicos apresentam uma redução lenta ou nula a temperaturas mais baixas, sendo que alguns podem até desenvolver-se.

Na compostagem, a exposição a uma temperatura média de 55-60 °C durante pelo menos três dias é usualmente suficiente para destruir a maioria dos agentes patogênicos entéricos (Sunar *et al.*, 2009). Durante a compostagem são alcançadas temperaturas que são letais para a maior parte dos microrganismos patogênicos humanos e animais. O uso de temperaturas elevadas é considerado assim, como o método mais fiável e disponível para a higienização do composto. É essencial que a temperatura letal seja alcançada, ao mesmo tempo, em todas as partes da massa sujeita a compostagem. Ambos os requisitos (totalidade e simultaneidade) são tecnicamente muito difíceis de alcançar (Bertoldi *et al.*, 1988). A capacidade de expor todo o volume do material para as condições de tempo e temperatura requeridas é pois, tão importante como as condições de tempo e temperatura em si mesmo. Dada a importância da temperatura na inativação dos organismos patogênicos, o controlo de temperatura é uma parte essencial do processo de avaliação e verificação do grau de higienização. Em complemento, e considerando que os níveis de confiança dependem do tipo de operação (sistema aberto, reator fechado, com ou sem volteamento), é fundamental assegurar que o sistema opera de modo a que todo o material alcança um perfil adequado de tempo - temperatura.

Embora o ponto de morte térmica e a sensibilidade ambiental de muitos agentes patogênicos sejam bem conhecidos, persistem ainda questões de relevância relacionadas com a inativação de determinados organismos patogênicos através do processo de compostagem (Wichuk, McCartney,

2007). Para todos os organismos patogénicos existem temperaturas limite acima das quais os microrganismos não são viáveis. No caso dos vírus, a inativação durante a compostagem é, em grande parte, devida à exposição a temperaturas elevadas. A inativação térmica ocorre como resultado de danos na estrutura viral. Especificamente, a superfície das proteínas é desnaturada quando exposta a altas temperaturas, fazendo com que os vírus deixem de ser infecciosos, pois ficam impedidos de se ligar à célula hospedeira (Guardabassi *et al.*, 2003). Em menor grau, os vírus também são inativados pela ação antiviral de determinadas enzimas produzidas por bactérias e pela amónia libertada em consequência da degradação de proteínas. Para os restantes grupos de patogénicos, as temperaturas elevadas, durante períodos prolongados e acima do seu limiar de sobrevivência, provocam a destruição de células em resultado da inativação de enzimas celulares. Uma vez que a atividade enzimática é necessária para as células funcionarem, a consequência da inativação das enzimas traduz-se em inativação celular (Wichuk, McCartney, 2007).

Geralmente, quanto mais elevada a temperatura, mais eficiente será a destruição dos agentes patogénicos. Contudo, na literatura encontram-se relatos (Ryckeboer *et al.*, 2003) que referem que *Salmonella* spp. foram suprimidas de forma mais eficiente em compostos produzidos a 55 °C do que a 70 °C, indicando que, em certos casos, efeitos antagónicos exercidos através de outros microrganismos, nomeadamente actinomicetes, podem ser mais importantes do que o fator temperatura. As diretrizes para a higienização, através de tratamento térmico, dependem do microrganismo seleccionado e do material, bem como da combinação [tempo de exposição – temperatura]. A **Tabela 3.2** apresenta exemplos de dados de sobrevivência (Valor-D) durante o tratamento térmico para uma série de organismos patogénicos encontrados em resíduos orgânicos.

**Tabela 3.2** - Exemplos de Valor-D para organismos patogénicos em resíduos orgânicos (adaptado de Elving, 2009)

Organismo	Temp. (°C)	Valor D	Fonte
<i>E. coli</i> O157:H7 em estrume compostado	50	135 min	(Jiang <i>et al.</i> , 2003)
<i>S. Senftenberg</i> W775 em composto líquido	50	56,7 min	(Soldierer & Strauch 1991)
<i>S. Senftenberg</i> W775 em carne, 100% humidade	55	36 min	(Ceustermans <i>et al.</i> , 2007)
<i>S. Senftenberg</i> W775 em carne, 60% humidade	55	104 min	(Ceustermans <i>et al.</i> , 2007)
<i>S. Senftenberg</i> W775 em estrume líquido	55	11,5 min	(Soldierer & Strauch, 1991)
<i>E. coli</i> O157:H7 em estrume compostado	55	35,4 min	(Jiang <i>et al.</i> , 2003)
Enterococos fecais em composto	55	0,5 horas	(Lund <i>et al.</i> , 1996)
Coliformes fecais em composto	55	<24 dias	(Shuval <i>et al.</i> , 1991)
Parvovírus bovino em lamas	70	0,38 horas	(Bohm, 2004)
Parvovírus bovino em estrume líquido	70	72 min	(Srivastava & Lund, 1980)

Sunar *et al.* (2009) citam dados para a eliminação de *Salmonella* spp. e *E. coli* para o binómio de tempo – temperatura em produtos sujeitos a compostagem conforme **Tabela 3.3**.

**Tabela 3.3** – Temperatura e tempo necessários para eliminar *Salmonella*. spp e *E. coli*

Organismo	Temperatura letal e tempo necessário
<i>Salmonella</i> spp.	15-20 min a 60 °C; 1 h a 55 °C
<i>E. coli</i>	15-20 min a 60 °C; 1 h a 55 °C

Uma quantidade considerável de dados sobre a inativação térmica de microrganismos encontra-se disponível na literatura, embora a variação entre combinações de tempo e temperatura para assegurar a higienização do produto final seja, também, significativa.

Sob certas condições, as bactérias entéricas patogénicas, tais como *Salmonella* spp. e *E. coli*, são conhecidas por serem capazes de crescer em matérias orgânicas compostadas quando as temperaturas caem para níveis subletais. Esta situação não ocorre no caso de parasitas que requerem organismos hospedeiros para se multiplicarem, como vírus, protozoários e helmintes patogénicos (Wichuk, McCartney, 2007). O crescimento de agentes patogénicos, após a conclusão

do processo de compostagem assume uma relevância especial, pelo que tem sido objeto de diversos trabalhos de investigação (Zaleski *et al.*, 2005). O crescimento de uma população microbiana em compostos difere da recolonização, sendo que esta última pode ser definida como a reintrodução (p. ex., por contaminação fecal animal) de microrganismos num substrato, seguida de crescimento.

Considerando que é assumido que a fase termófila da compostagem garante a inativação dos patogénicos presentes na mistura e, como tal, a higienização do produto final, ao verificar-se um crescimento de determinados patogénicos importa identificar quais os fatores que poderão influenciar o desenvolvimento desses organismos. Uma das referências mais citadas (Singh, 2011; Singh *et al.*, 2011) para a sobrevivência de agentes patogénicos no final da compostagem diz respeito ao facto da temperatura não ser uniforme na massa sujeita a tratamento (*não verificação do critério totalidade e simultaneidade para o binómio tempo-temperatura*), ou seja, ocorre uma estratificação da temperatura no seio do substrato. Assim, zonas com temperaturas mais baixas que as desejadas são uma preocupação para os operadores de unidades de compostagem, não só, porque os organismos patogénicos podem não ser suficientemente reduzidos mas, também, porque as condições podem ser favoráveis para o repovoamento por bactérias patogénicas (Wichuk, McCartney, 2007).

Outra causa a considerar prende-se com a adaptação ao calor dos organismos patogénicos. Várias pesquisas (Singh *et al.*, 2011) sugerem que a indução de resposta ao choque de calor subletal em organismos patogénicos prolonga a sua sobrevivência quando expostos a temperaturas tipicamente consideradas letais, ou seja, populações sujeitas a choques de calor apresentam uma resistência térmica mais elevada do que as células não expostas a stresses térmicos subletais em várias matrizes de amostras incluindo compostos. Um aquecimento mais lento e prolongado, no início da compostagem, poderá contribuir para a sobrevivência de microrganismos patogénicos no produto final devido a uma melhor adaptação ao calor dos mesmos. O atraso no surgimento da etapa termófila pode induzir, em algumas populações microbianas, uma resposta ao choque térmico, traduzindo-se num aumento da resistência ao calor e na sobrevivência desses organismos durante todo o processo de compostagem. Inviabilizar uma resposta dos organismos patogénicos ao choque de calor é, portanto, uma questão operacional relevante para a segurança microbiológica do composto.

A humidade, a estabilidade da matéria orgânica (disponibilidade de nutrientes) e a diversidade e competição microbiana são também fatores que influenciam o crescimento de organismos patogénicos em compostos conforme se conclui da literatura consultada (Singh, 2011; Elving, 2009; Ceustermans *et al.*, 2007; Wichuk, McCartney, 2007; Wilkinson, 2007). Para níveis de humidade inferiores a 25%, todo o crescimento microbiano, incluindo para os patogénicos, é retardado, podendo eventualmente até cessar. Consequentemente, as condições prevalecentes num composto maturado e estabilizado não são propícias para um novo crescimento de microrganismos patogénicos, desde que o teor de humidade seja inferior a 30% (Bertoldi *et al.*, 1988). Estudos (Soares *et al.*, 1995) referem a re-humidificação dos compostos como responsável por criar um ambiente ideal para o

repovoamento por organismos patogénicos, uma vez que teores de humidade elevados no produto acabado são catalisadores do crescimento de patogénicos.

Em geral, parece haver um risco aumentado de crescimento de bactérias patogénicas em materiais de baixa estabilidade e maturidade, sendo que tal não se verifica em compostos maturados e estabilizados. Esta diferença pode ser explicada possivelmente devido à carência de nutrientes necessários para o crescimento bacteriano nos produtos estabilizados (Elving, 2012). Sendo a razão C:N um indicador nutricional, várias pesquisas (Wilkinson, 2007) referem que, para uma relação C:N inferior a 15:1, a disponibilidade de nutrientes encontra-se limitada e o repovoamento não ocorre.

Em síntese, a inativação de microrganismos patogénicos não deve ser unicamente baseada em critérios de tempo e temperatura, pois não garantem, de forma inequívoca, a segurança microbiológica da compostagem e do composto. A razão C:N e o teor de humidade do produto final são também fatores importantes na taxa de inativação de agentes patogénicos (Singh *et al.*, 2011).

### **3.4 ORGANISMOS INDICADORES**

Embora a inativação de agentes patogénicos tenha sido alvo de extensa investigação, a atenção dada ao desenvolvimento de estratégias para verificação da segurança microbiológica de sistemas de compostagem carece de ser mais intensificada (Christensen *et al.*, 2002), pelo que a validação de processos de compostagem como meio de destruição ou inativação de microrganismos patogénicos apresenta ainda diversos desafios.

Vários constrangimentos são relatados (Ceustermans *et al.*, 2007) durante a determinação da segurança microbiológica dos processos de compostagem:

- I. densidades populacionais de organismos patogénicos naturalmente presentes estão muitas vezes abaixo dos limites de deteção;
- II. métodos de deteção nem sempre são muito específicos;
- III. métodos de deteção frequentemente dispendiosos;
- IV. procedimentos demorados ou complexos.

A deteção dos possíveis organismos patogénicos que podem ocorrer no material tratado é complexa, uma vez que é impossível testar a presença de todos os microrganismos, resultando, por isso, serem fundamentais estratégias alternativas para garantir a segurança do produto final. Um conjunto representativo de microrganismos, designado de organismos indicadores, pode, pois, ser utilizado para esse fim (Ligocka, Paluszak, 2008). Os organismos indicadores podem ser usados como indicativos do processo e para modelar o comportamento dos agentes patogénicos durante o tratamento de higienização dos resíduos orgânicos. Ao estabelecer relações entre organismos indicadores e patogénicos para um determinado processo (Elving, 2012), pode ser possível utilizar

microrganismos que naturalmente ocorrem no meio como modelos e indicadores do processo. Uma vez identificadas tais conexões, o organismo modelo pode ser usado em processos de tratamento como um indicador, permitindo monitorizar se o processo está a cumprir os objetivos de redução estabelecidos pelas normas e regulamentos vigentes. Ao recorrer-se a organismos indicadores, certas generalizações são admitidas, podendo a validação do método basear-se no pressuposto de que o indicador selecionado para o processo representa um cenário de pior caso.

As espécies selecionadas para organismos indicadores devem cumprir vários requisitos de modo a fornecer informações fiáveis e consistentes (Sunar *et al.*, 2009; Bertoldi *et al.*, 1988):

- a. estar sempre presente em grande número no substrato/matéria-prima;
- b. pertencer a um grupo que apresente as mesmas reações ao tratamento (ou seja, alterações térmicas);
- c. com uma margem de segurança, devem ter uma resistência maior, para serem eliminados, do que a dos microrganismos patogénicos;
- d. o método para o isolamento e identificação deve ser simples, fiável e económico, nomeadamente quando aplicado a um substrato com uma matriz microbiológica complexa, tal como o composto ou materiais relacionados;
- e. o indicador não deve ser um organismo que está geralmente presente no solo ou materiais relacionados com o solo.

Alguns dos organismos indicadores mais frequentemente usados pertencem às famílias *Enterobacteriaceae* e *Enterococcaceae*, tais como, coliformes totais, *E. coli* e *Enterococcus*. Certos vírus e ovos de parasitas podem também servir, de forma satisfatória, como indicadores credíveis (Bertoldi *et al.*, 1988).

*Enterococcus* e coliformes totais podem ser úteis como indicadores de processo, porque estão presentes, em quantidades suficientes, em materiais como os resíduos orgânicos. Os enterococos são mencionados por apresentarem geralmente maior resistência a diferentes fatores ambientais comparativamente aos coliformes. Resultante da pesquisa bibliográfica efetuada, vários ensaios de inativação (Elving, 2012) referem que os enterococos demonstraram possuir uma elevada resistência a situações de stresse e uma termotolerância mais elevada do que *Salmonella* spp., sendo, por isso, indicadores mais conservadores para processos térmicos. Assim, este grupo de bactérias é geralmente sugerido para ser utilizado como indicador da contaminação fecal para diferentes *habitats*, apresentando uma boa correlação com o potencial de crescimento dos organismos patogénicos. Entre os indicadores bacterianos de contaminação fecal, o papel de *E. coli* deve ser também considerado, uma vez que possui uma boa correspondência com a presença de outras bactérias entéricas de características idênticas, podendo ser um indicador fecal válido. Estudos científicos (Wichuk, McCartney, 2007) demonstraram, no entanto, que *Enterococcus* é mais termorresistente que *E. coli*.

*Salmonella* Senftenberg W775 (H<sub>2</sub>S negativo) é um dos organismos de teste utilizados para representar os patogênicos de interesse humano e veterinário, uma vez que pode ser detetada quantitativamente e diferenciada ao nível da espécie. Embora este organismo não seja um patogênico de origem alimentar relevante, é utilizado como organismo de teste para determinar a segurança sanitária dos processos de compostagem (Elving, 2012), uma vez que, verificando-se a sua destruição térmica, garante-se que o processo é também eficaz para outras espécies de *Salmonella* e para uma gama de organismos patogênicos, tais como, vírus da peste suína africana, vírus da peste suína clássica, vírus da febre aftosa. Uma exceção prende-se com o parvovírus bovino, que é mais resistente ao calor do que *Salmonella*. Ceustermans *et al.* (2007) verificaram que *S. Senftenberg*, considerada a mais resistente ao calor dos serótipos de *Salmonella*, é inativada em 10 horas a 60 °C, na compostagem de biorresíduos, com um teor de humidade entre 60 a 65%. Quando a temperatura está compreendida entre 50-55 °C, a erradicação é alcançada ao fim de sete dias. No processo de compostagem, a temperatura é o parâmetro mais importante na erradicação de *S. Senftenberg* estirpe 775W. Outros parâmetros, tais como, o teor de humidade o antagonismo microbiano, presença de compostos e metabolitos tóxicos, alterações de pH, exercem também uma influência na permanência da *S. Senftenberg* 775W (Ceustermans *et al.*, 2007; De Clercq *et al.*, 2007).

Estudos recentes (Bijlsma *et al.*, 2013) demonstraram, para o composto, que *E. coli* e *Salmonella* exibem um padrão idêntico de inativação [tempo-temperatura]. *Escherichia coli* é um indicador mais adequado para determinar a ausência/presença de *Salmonella* no produto final do que *Enterococcus* (pode exibir fenómenos de crescimento no composto final).

A regulamentação europeia aplicável aos SPOA prevê, igualmente, o uso de um vírus termorresistente, como o parvovírus, na validação de parâmetros de transformação alternativos. Estes microrganismos são conhecidos por causar infeção em suínos, vacas, gatos, cães, patos, sendo que os seres humanos podem também ser contaminados. No entanto, em circunstâncias normais, o parvovírus é específico para o seu hospedeiro. O parvovírus é mais estável a temperaturas elevadas do que a maioria dos outros vírus e, por conseguinte, é usado como organismo indicador em diferentes tipos de tratamentos.

Os vírus são determinados em resíduos orgânicos com menor frequência do que outros patogênicos devido à falta de métodos simples para o seu isolamento em amostras contaminadas. O estado atual da investigação sugere que a influência do meio ambiente sobre a inativação dos vírus é multiforme, sendo que, além da temperatura, um aumento do teor de amónia, presença de metais pesados, assim como as proteases e nucleases de microrganismos, têm um efeito sobre a sua eliminação. O efeito da temperatura sobre a taxa de eliminação dos enterovírus tem sido estudado por vários autores (Elving, 2009; Ligocka, Paluszak, 2007; Monteith *et al.*, 1986), contudo a diversidade de resultados obtidos é considerável.

### 3.5 MÉTODOS DE VALIDAÇÃO

Em geral, tem sido admitido que, se os processos de compostagem forem geridos de forma adequada, é assegurada a higienização do composto final. Um processo de compostagem deve cumprir requisitos mínimos de tempo e temperatura para garantir a erradicação de organismos prejudiciais. Contudo, e simultaneamente, além da verificação das condições acima referidas, a higienização durante a compostagem pode ser estudada através da inoculação ativa e monitorização de organismos indicadores (De Clercq *et al.*, 2007).

A conformidade com os atuais regulamentos europeus para a verificação da qualidade microbiológica e higiénica dos processos de compostagem prevê a demonstração por análise de testes no local (*Spot test analysis*), desde que adequadas precauções de higiene sejam tomadas durante a amostragem, ou, em alternativa, a avaliação direta do processo. A análise de testes no local (Christensen *et al.*, 2002) é um método preciso para a observação do processo sanitário, simples e económico de executar, o que o torna num procedimento interessante para a supervisão da qualidade higiénica da compostagem em escala industrial. As amostras são colhidas diretamente da matéria-prima, em diferentes estágios durante o processo e no composto, e analisadas para os organismos selecionados.

A avaliação direta do processo de compostagem (Wilkinson, 2007; Christensen *et al.*, 2002) é muitas vezes utilizada para verificar a erradicação de agentes patogénicos. Este procedimento envolve a inoculação de organismos de teste diretamente no meio sujeito a compostagem, permitindo evidenciar a sua capacidade de sobrevivência nas condições de operação. É um instrumento importante para a identificação de parâmetros de otimização do processo de transformação biológica ou para investigar a suscetibilidade de organismos patogénicos a determinados ambientes específicos durante a compostagem. Quando se utiliza o processo de avaliação direta é importante que as condições nos recipientes com o inóculo não sejam diferentes do material circundante (Christensen *et al.*, 2002), uma vez que a inativação de agentes patogénicos é muito dependente do ambiente físico e químico. No caso da avaliação direta é fundamental, pois, garantir que as condições nas sondas/bolsas ou sacos inoculados não sejam distintas do contexto real.

Dos vários microrganismos específicos utilizados na validação dos processos de compostagem de resíduos orgânicos salientam-se a *S. Senftenberg W775* (H<sub>2</sub>S negativo), *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Ent. faecalis* e PVB (Ligocka, Paluszak, 2008). Parvovírus bovino, *Ent. faecalis*, e *S. Senftenberg W775* são os mais resistentes a temperaturas elevadas.

No caso da adoção de parâmetros de transformação alternativos poderão ser utilizadas duas técnicas de validação:

- recurso a um organismo indicador (endógeno) existente no material inicial, ou
- usando organismos de ensaio adequados, introduzindo-os na mistura inicial.

A utilização de organismos endógenos depende das propriedades microbiológicas dos materiais processados, sendo essencial assegurar que se encontram presentes em número elevado, de forma consistente, permitindo demonstrar a redução necessária através de análises convencionais em laboratório (*i.e.* fácil quantificação e identificação).



## **CAPÍTULO 4 - SUBPRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

### **4.1 ENQUADRAMENTO**

A utilização de certos SPOA pode representar um risco para a saúde humana e animal. No passado, práticas incorretas permitiram a utilização de matérias-primas para uso em rações animais, com um padrão de qualidade sanitária inferior ao utilizado para a alimentação humana. A prática de reciclagem de cadáveres de animais e materiais impróprios para consumo humano na cadeia alimentar animal foi o principal fator para a propagação de epidemias como a encefalopatia espongiforme transmissível (EET), contaminação de alimentos por elementos químicos como dioxinas e doenças exóticas, tais como a peste suína clássica e a febre aftosa (DEFRA, 2011). Decorrente de tais factos, essas atividades foram interditadas e a eliminação de subprodutos animais exige, atualmente, um controlo bastante rigoroso. No âmbito da UE foi desenvolvida regulamentação para os SPOA, de forma a asseverar a segurança alimentar e saúde animal nos EM, instituindo regras para minimizar o risco de contaminantes patogénicos e melhorar a rastreabilidade dos SPOA.

### **4.2 REGULAMENTAÇÃO DA UE EM MATÉRIA DE SUBPRODUTOS ANIMAIS**

A regulamentação para os SPOA é uma ampla peça do direito europeu, que compreende todos os aspetos relacionados com a recolha, tratamento, armazenamento e utilização dos subprodutos animais. O primeiro regulamento entrou em vigor em 2002 (Regulamento (CE) n.º 1774/2002), tendo sido posteriormente revogado e substituído em 2011 pelo Regulamento de execução (UE) n.º 142/2011, de 25 de fevereiro. O Regulamento de execução (UE) n.º 142/2011 veio proceder à implementação do Regulamento (CE) n.º 1069/2009. Além do Regulamento (UE) n.º 142/2011, de 25 de fevereiro de 2011, uma versão consolidada foi publicada em 19 de agosto de 2011, incorporando uma alteração decorrente do Regulamento (UE) n.º 749/2011, de 29 de julho de 2011. No entanto, tal alteração não se aplica a instalações de compostagem.

O Regulamento (CE) n.º 1069/2009, de 21 de outubro, estabelece as regras sanitárias relativas aos subprodutos de origem animal e produtos derivados não destinados ao consumo humano. O recente Regulamento da Comissão (UE) n.º 2015/9, de 6 de janeiro, procedeu a um conjunto de alterações com particular enfoque nos vários anexos que compunham o Regulamento (UE) n.º 142/2011. Tais modificações são consequência de uma avaliação extensa e abrangente realizada pela Comissão Europeia relativamente à aplicação, nos vários EM, dos diversos requisitos relativos aos SPOA. Assim, foi objetivo criar uma regulamentação mais ajustada, tornando as medidas mais concludentes, reduzindo os encargos desnecessários para os operadores, garantindo a rastreabilidade, os controlos

indispensáveis, com base em categorias de risco, e assegurando simultaneamente que, quer a proteção da saúde pública e animal, quer a segurança alimentar, não fossem prejudicadas. Os Regulamentos da UE são diretamente aplicáveis em todos os EM, sendo que as suas disposições devem ser respeitadas e concretizadas.

O Regulamento (CE) n.º 1069/2009, complementado com o Regulamento de execução (UE) n.º 142/2011 e respetivas alterações introduzidas pelo Regulamento (UE) n.º 2015/9, abrange todos os produtos de origem animal, incluindo carne, peixe, leite e ovos, quando não são destinados ao consumo humano, além de outros produtos de origem animal. Aplica-se igualmente a carcaças de animais mortos em explorações agrícolas, animais de estimação e animais selvagens quando existe suspeita de doença. Regula ainda a utilização de subprodutos de origem animal, por exemplo, para alimentação (incluindo comidas para animais domésticos), estabelece regras para a sua transformação em fertilizantes e biogás e a sua eliminação nomeadamente através de incineração. A sua aplicação nos EM introduziu regras mais estritas para a aprovação ou registo de qualquer instalação que trabalhe com subprodutos animais, métodos de rastreabilidade e controlo para os diferentes tipos de SPOA, a fim de garantir a segurança dos produtos finais destinados a usos técnicos ou à produção de alimentos (incluindo alimentação animal).

Apesar do cariz abrangente do Regulamento (CE) n.º 1069/2009 não há nenhuma secção exclusiva cobrindo todos os aspetos da compostagem, originando uma interpretação e aplicação ambíguas da lei e variando consideravelmente entre os EM.

Os subprodutos de origem animal são definidos no artigo 3.º do Regulamento (CE) n.º 1069/2009 como "corpos inteiros ou partes de animais mortos, produtos de origem animal e outros produtos que provenham de animais que não se destinam ao consumo humano, incluindo oócitos, embriões e sémen". Tal abarca, nomeadamente, resíduos de cozinha, restos de géneros alimentícios, resíduos de matadouros e talhos, sangue, penas, lã, couros e peles, animais mortos, animais de estimação, animais de jardim zoológico e de circo, troféus de caça, chorume, óvulos, embriões e sémen que não se destinem para fins de reprodução. A palavra "peixe" não está definida no regulamento. No entanto, na maioria dos casos em que é feita referência, é usada a designação mais ampla, significando animais aquáticos, incluindo outros animais marinhos (moluscos e crustáceos), exceto mamíferos marinhos (ECN, 2013).

#### **4.3 CATEGORIZAÇÃO DE SPOA**

Nos termos do Regulamento (CE) n.º 1069/2009, os SPOA são classificados em três categorias que refletem o grau de risco que representam para a saúde humana e animal. As categorias são definidas de acordo com o risco de inclusão na cadeia alimentar, direta ou indiretamente. As possíveis opções

para outros usos ou a eliminação do material estão associadas à categoria específica para a qual os materiais foram designados.

#### 4.3.1 MATÉRIAS CATEGORIA 1

As matérias da categoria 1 estão definidas no artigo 8º do Regulamento (CE) n.º 1069/2009. A categoria 1 é a de risco mais elevado, sendo composta principalmente por material que é considerado um risco de encefalopatias espongiformes transmissíveis, tais como determinados componentes de origem animal (p. ex., as partes de um animal consideradas mais prováveis de conter doenças como a BSE, tal como a medula espinal bovina). Os animais de companhia, animais de jardim zoológico e de circo e animais utilizados em ensaios laboratoriais também são classificados como matérias da categoria 1, devido ao nível de resíduos de medicamentos veterinários que são susceptíveis de conter e também devido ao facto dos diagnósticos para determinação da causa exata da morte, no caso de animais exóticos, nem sempre serem acessíveis. Os animais selvagens podem ser classificados como matérias da categoria 1 quando são suspeitos de transportar uma doença transmissível aos seres humanos ou animais. Os restos de cozinha provenientes de meios de transporte internacional também estão incluídos na categoria 1. Os resíduos da categoria 1 não podem ser tratados por compostagem ou digestão anaeróbia.

#### 4.3.2 MATÉRIAS CATEGORIA 2

Os materiais incluídos na categoria 2 encontram-se definidos no artigo 9º sendo classificados de alto risco e abrangendo animais e partes de animais (com exceção dos referidos nos artigos 8º e 10º), chorume, conteúdo do aparelho digestivo e resíduos recolhidos a partir de águas residuais de matadouros. Incluem-se ainda produtos importados de fora da UE que não cumpram os requisitos impostos pela UE. Todos os subprodutos de origem animal não inseridos nas categorias 1 ou 3 encontram-se englobados na Categoria 2. Para a compostagem os materiais com maior relevância, incluídos na categoria 2, são os chorumes e conteúdo do aparelho digestivo de animais. No caso de países com indústria de pesca e transformação de pescado, o peixe assume também especial destaque.

#### 4.3.3 MATÉRIAS CATEGORIA 3

O artigo 10º do Regulamento (CE) n.º 1069/2009 aplica-se às matérias da categoria 3. As matérias apresentam baixo risco e incluem partes de animais produzidas em matadouros (preparação de peças para consumo humano), mas que não se destinam ao consumo, porque não são partes habitualmente comestíveis (couros, penas, ossos, etc.) ou por razões comerciais. As matérias da categoria 3 incluem ainda restos de géneros alimentícios (resíduos de unidades fabris de processamento de alimentos, grossistas ou de retalho) e produtos que não apresentem quaisquer sinais de doença transmissível aos seres humanos ou animais. Restos de cozinha (não procedentes de transportes internacionais), incluindo os resíduos domésticos gerados em cozinhas são também materiais abrangidos pela categoria 3 e são definidos como sendo os restos alimentares, incluindo os óleos alimentares usados (OAU) gerados em instalações, tais como restaurantes, cozinhas centrais ou domésticas, em que os alimentos são produzidos para consumo direto.

No caso específico dos OAU, a sua proibição do uso na alimentação animal surgiu em resposta a um pedido de longa data dos EM na sequência da crise de 1999 (contaminação por dioxinas) (EC\_DGHCP, 2004). O regulamento proíbe a utilização, na alimentação animal, de gorduras animais e óleos vegetais gerados em restaurantes, instalações de restauração e cozinhas, uma vez que não é possível garantir a sua rastreabilidade e qualidade. Os riscos para a saúde animal estão associados à presença de níveis indesejáveis de contaminantes (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, PCB, dioxinas, etc.). Tal interdição garante também a mitigação de potenciais fenómenos de bioacumulação nos seres humanos.

Os SPOA resultantes de instalações de cozinhas, armazenistas, retalho, manufatura e distribuição, lojas de conveniência, mercados, talhos e peixarias, geralmente dividem-se numa das seguintes categorias (DEFRA, 2011):

- I. carne e peixe crus (carne ou peixe usados em massas ou em molhos, carnes curadas, salsichas, hambúrgueres, aves, peixes, frutos do mar embalados ou avulso);
- II. produtos alimentares não destinados ao consumo humano (produtos de origem animal ou géneros alimentícios que contenham produtos de origem animal e não se destinam ao consumo humano, por motivos comerciais ou devido a problemas de fabrico, defeitos de empacotamento ou outras falhas) e não apresentando risco para a saúde pública ou animal;
- III. restos de cozinha.

No caso específico dos restos de cozinha incluídos na Categoria 3, a transposição para direito nacional da Diretiva-Quadro Resíduos é a legislação que regulamenta a recolha, transporte e eliminação. Assim, para este fluxo em particular, o normativo europeu relativo aos SPOA não exige procedimentos específicos de limpeza e desinfeção para os veículos de recolha e contentores, mas impõe que os EM respeitem e demonstrem os requisitos mínimos de boas práticas referentes ao ambiente e à proteção da saúde humana.

#### **4.4 OPÇÕES DE HIGIENIZAÇÃO PARA SPOA**

##### **4.4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Para o tratamento de SPOA diversas opções são possíveis, dependendo do nível requerido de higienização. Contudo, a hierarquia para a seleção dos métodos de tratamento tem sempre em consideração o material que exige o processo de higienização mais restritivo, ou seja, seguindo uma ordem decrescente de risco, quando dois ou mais fluxos de resíduos são combinados, a mistura total deve ser considerada sempre pelo material presente de mais alto risco. O Regulamento (CE) n.º 1069/2009 menciona as condições a verificar para os parâmetros relativos à transformação de SPOA, incluindo restos de cozinha, em processos de compostagem. Os EM podem adotar ou manter as regras nacionais para a transformação dos restos de cozinha em instalações de compostagem,

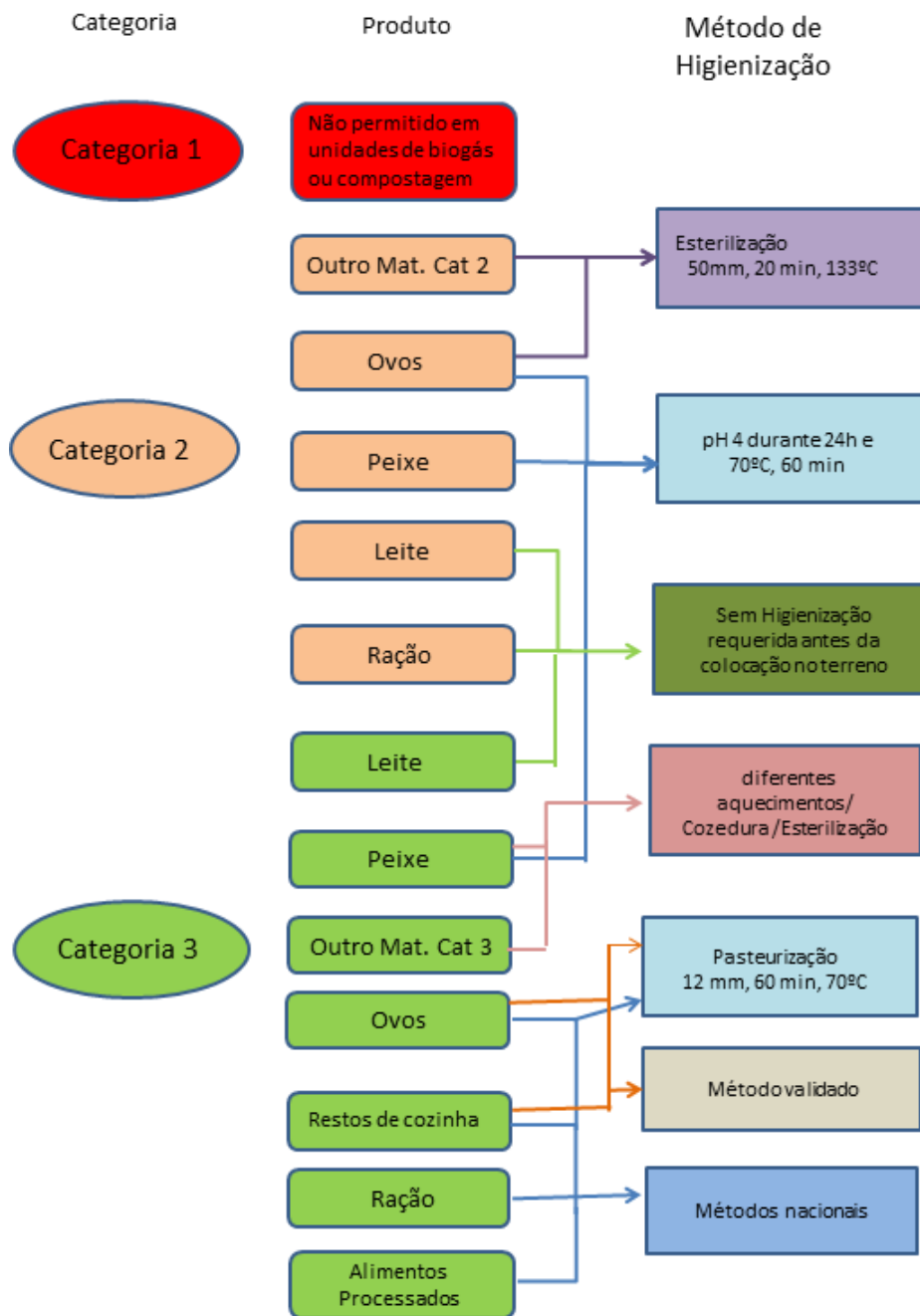
incumbindo à autoridade competente do respetivo país garantir que as normas vigentes asseguram um efeito equivalente quanto à redução dos agentes patogénicos. Os compostos produzidos nessas instalações só podem ser colocados no mercado do próprio EM, não sendo permitida a sua exportação. As unidades de compostagem só podem tratar os SPOA da categoria 3 ou, no caso de SPOA incluídos na categoria 2, desde que sujeitos previamente a tratamento específico. É permitido também o tratamento de chorume, do trato digestivo e respetivo conteúdo, leite e produtos lácteos, ovos e produtos derivados, e colostro. As unidades de compostagem devem demonstrar que o calor gerado na fase de higienização decorre da atividade biológica associada ao processo de degradação da matéria orgânica, garantindo a produção de um composto de qualidade. A aprovação das instalações de compostagem é feita nos termos do artigo 24.º do Regulamento (CE) n.º 1069/2009.

Os agentes patogénicos de origem humana, vegetal ou animal são microrganismos que podem causar doenças ou enfermidades nos seus hospedeiros; podendo estar associados a materiais sólidos, em suspensão aquosa ou libertados para a atmosfera sob a forma de bioaerossóis. As instalações de compostagem necessitam garantir que o processo atesta uma redução geral dos organismos patogénicos, sendo fundamental uma abordagem flexível na gestão dos processos, a fim de acomodar a diversidade de soluções tecnológicas, incorporando regimes de tempo e temperatura, sistemas de gestão de qualidade, bem como programas de monitorização e controlo.

É importante referir que um processo de tratamento biológico não é, nunca, 100% seguro, existindo pois, um nível de risco residual e que a sociedade considera tolerável (European Compost Network ECN e.V., 2013). No caso da regulamentação aplicada aos SPOA estão estabelecidas quatro estratégias para o tratamento de diferentes tipos de materiais, as quais variam conforme o risco de infeção que apresentam (para animais e seres humanos). Resumidamente:

- I. Sem tratamento obrigatório, aplicando-se a matérias-primas que são consideradas como apresentando um risco negligenciável, sendo vulgarmente usadas diretamente em solos agrícolas sem tratamento específico.
- II. Exigência de que matéria-prima deve ser sujeita a uma temperatura mínima durante um período de tempo determinado. Tal processo é designado como higienização, desinfeção ou pasteurização.
- III. Exigência de que o potencial de redução de agentes patogénicos de um determinado sistema de compostagem seja validado através da introdução de organismos indicadores de teste. É possível a utilização de organismos de teste introduzidos artificialmente ou de organismos indicadores endógenos.
- IV. Deteção de microrganismos indicadores nos produtos finais, associado a um esquema de garantia de qualidade. A análise, para efeitos de garantia de higiene e de colocação no mercado de produtos seguros, deve acontecer sempre após o término do tratamento.

Na **Figura 4.1** encontram-se representadas possíveis opções de tratamento para SPOA, dependendo do nível requerido de higienização.



**Figura 4.1** – Métodos de higienização para diferentes categorias de SPOA (adaptado de ECN e.V, 2013)

**nota:** Categoria 2 "ovos" são os que estão contaminados com *Salmonella* ou sob suspeita de conter produtos farmacêuticos devido a um tratamento conhecido das aves.

Na maioria dos EM o recurso a uma combinação temperatura/tempo/tamanho das partículas e testes no produto final são usados para monitorizar e assegurar que o processo de higienização ocorreu de forma adequada. No caso dos testes no produto final os microrganismos indicadores típicos são *Salmonella* spp. e *E. coli* ou *Enterococcaceae* ou *Ent. faecalis*.

Existe um consenso generalizado de que temperaturas entre 55 °C e 70 °C têm o efeito pretendido de redução dos agentes patogénicos, ainda que o período durante o qual a temperatura deva permanecer no referido patamar apresente alguma diversidade e discussão de opiniões, estando dependente, mormente, das condições de processamento e da mistura inicial (ECN e.V, 2013). Tal como já abordado no **Capítulo 3**, a temperatura não é o único parâmetro responsável por uma suficiente eliminação dos organismos patogénicos. De acordo com Amlinger e Barth (2010) na compostagem, o tempo e os parâmetros do processo (arejamento, humidade, relação C:N, pH, tamanho da pilha de compostagem, etc.), mesmo a temperaturas inferiores a 50-55 °C, têm uma importância igual (se não maior) como um curto período de tempo de exposição a uma temperatura elevada (entre 55-70 °C).

Independentemente das exigências nacionais aplicáveis à transformação e higienização, todas as unidades operacionais têm de ser aprovadas (ou registadas) pela autoridade competente de cada EM. O tipo de subprodutos animais tratados e o processo de higienização devem ser descritos, incluindo o tamanho máximo das partículas, o regime de temperatura/tempo e respetivo procedimento de monitorização e controlo. No caso de um processo alvo de validação, outros parâmetros podem ser identificados como pontos críticos de controlo, pelo que devem ser também monitorizados e supervisionados pelo operador da instalação.

De acordo com o definido pelo parágrafo 2, secção 1, capítulo III, Anexo V do Regulamento (UE) n.º 142/2011, os parâmetros de transformação normalizados para unidades de compostagem são os seguintes:

- **70 °C** durante **uma hora** ininterrupta com e com um **tamanho** de partícula máximo de **12 milímetros**

A pasteurização durante 60 minutos a 70 °C tem sido o padrão assumido para a higienização térmica no tratamento de SPOA e decorre do utilizado no processamento de alimentos. Esta opção de tratamento é geralmente reconhecida como um método que minimiza o conteúdo em agentes patogénicos, para níveis considerados apropriados, produzindo um produto final seguro para aplicação no solo, uma vez que, a uma temperatura tão elevada, o tempo de sobrevivência da maioria dos organismos patogénicos é diminuto (Elving, 2012; Jones, Martin, 2003). A exigência de 12 milímetros como tamanho máximo das partículas significa um máximo de 12 milímetros num dos planos direcionais, ou seja, uma tira de carne pode ter 50 milímetros de comprimento, mas se a espessura ou largura for inferior a 12 milímetros cumpre o requisito.

Uma instalação de compostagem é definida no regulamento da UE como "uma unidade em que os subprodutos de origem animal ou produtos derivados constituem pelo menos parte da matéria que é submetida a degradação biológica em condições aeróbias". As unidades de pasteurização / higienização e instalações de compostagem devem possuir:

- sistemas de monitorização da temperatura em função do tempo;
- dispositivos de registo em contínuo dos resultados dessas medições;
- um sistema de segurança adequado para evitar um aquecimento insuficiente da matéria submetida a degradação biológica.

Tal como referido, subsiste ainda alguma controvérsia quanto aos parâmetros de transformação normalizados para as matérias-primas (SPOA) sujeitas a compostagem. Segundo Amlinger e Barth (2010) o tamanho máximo de 12 milímetros para partículas contradiz as necessidades biológicas de um processo adequado de compostagem, podendo levar ao surgimento de condições anaeróbias, condicionando a distribuição de temperatura e o processo biológico de higienização. Citam ainda estudos que demonstram que, para um tamanho de partícula de 100 a 150 mm, com os regimes de tempo/temperatura propostos, é conseguida uma redução equivalente em organismos indicadores de teste (*Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Ascaris*, diversos vermes, enterovírus, vírus da Hepatite A., vírus Norwalk) por comparação a 70 °C / 1h / 12 mm. Paluszak *et al.* (2011) nos estudos realizados não observaram efeito do tamanho de partículas de carne na eficiência da compostagem, concluindo que, se adequadamente realizado, o processo de compostagem para subprodutos animais garante a higienização completa da biomassa, mesmo se o tamanho das partículas ultrapassar os 12 mm. Outros documentos consultados (Gale, 2002) referem que uma temperatura de 70 °C durante 1 hora assegura a higienização para partículas esféricas de diâmetro <6 cm.

A imposição de uma temperatura elevada (70 °C) tem, também, sido alvo de discussão, uma vez que tais temperaturas, aparentemente, podem levar a uma perda das propriedades do solo, pelo que a utilização de temperaturas mais baixas nos processos de compostagem tem sido defendida por alguns investigadores. Tais estudos microbiológicos (Gale, 2002) visam demonstrar que quando são utilizadas temperaturas mais baixas, a microbiota indígena presente no material a ser compostado é preservada e a competição por nutrientes, originada pela microbiota natural, leva a que o número de organismos patogénicos diminua. Os organismos indígenas estão mais adaptados ao meio, prosperando à custa dos agentes patogénicos presentes, através da competição por nutrientes e predação.

Para assegurar o adequado processamento e utilização de SPOA existem quatro ferramentas-tipo:

- I. validação;
- II. monitorização dos parâmetros do processo;
- III. realização de testes ao produto final;
- IV. restrição, acompanhamento e supervisão do uso dos produtos finais.

Os ensaios realizados ao produto final podem ser considerados como insuficientes para garantir uma efetiva redução dos agentes patogénicos relevantes, servindo como um indicador de um processo

bem sucedido e, eventualmente, permitindo demonstrar a não ocorrência de fenómenos de recontaminação.

#### 4.4.2 MÉTODOS ALTERNATIVOS

A regulamentação da UE prevê a adoção de métodos alternativos, sendo que tal disposição (artigo 20º do Regulamento n.º 1069/2009 e parágrafo 3, artigo 10º, capítulo II, Regulamento (UE) n.º 142/2011) foi incluída para admitir a aprovação de sistemas que permitam atingir os padrões de tratamento definidos mas, mediante outros regimes de funcionamento, ou seja, introduzindo alguma flexibilidade para novas abordagens ou inovações que podem não estar refletidas no quadro regulamentar atual. A seleção de parâmetros de transformação alternativos deve ser baseada numa avaliação detalhada e independente dos riscos e verificada a sua eficácia na inativação dos agentes patogénicos, utilizando técnicas de avaliação de risco equivalentes às previstas no protocolo de avaliação de risco original. O procedimento de validação para um sistema de compostagem com parâmetros de transformação alternativos encontra-se definido no Regulamento (UE) n.º 142/2011, Anexo V, Capítulo III, Secção 2, com as alterações introduzidas pelo Regulamento (UE) n.º 2015/9. O processo de validação deve demonstrar uma diminuição do risco global, ou seja, uma redução de  $5\log_{10}$  para *Ent. faecalis* ou *S. Senftenberg* (775W, H<sub>2</sub>S negativo), o que significa que um máximo de 0,001% do nível inicial do organismo indicador de teste permanece após o processamento por compostagem.

Diversos trabalhos de investigação (Amlinger, Barth, 2010) têm mencionado que regimes mais flexíveis de temperatura/tempo (por exemplo, 50-55 °C e tempo de retenção hidráulico de 10 a 15 horas), em combinação com uma gestão operacional consistente e rigorosa das unidades de compostagem, garantem uma redução eficaz dos organismos patogénicos, fornecendo produtos finais seguros do ponto de vista epidemiológico. Tais pesquisas têm demonstrado também que existe uma estreita correlação entre a redução de *Enterococcaceae* e provírus (genoma do vírus, que é integrado no ADN de uma célula hospedeira).

Quando vírus patogénicos termorresistentes (ex. parvovírus) são assinalados como um perigo relevante, o processo deve comprovar uma redução de 3 ciclos logarítmicos para esses organismos. Segundo Amlinger e Barth (2010) o teste para a determinação de parvovírus só deve ser realizado em materiais em que é provável a sua ocorrência (por exemplo, chorume de porco). No caso de géneros alimentícios fora de prazo, estrume/chorume de aves (galináceos) a presença de parvovírus é improvável, não sendo necessário evidenciar a sua redução. Amlinger e Barth (2010) referem ainda o facto da determinação do parvovírus não ser prática, uma vez que é de difícil execução, onerosa e pouco precisa. Decorrente de resultados obtidos em ensaios sugerem, por razões práticas e de uniformidade (métodos credenciados e reprodutíveis), a demonstração de uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *Ent. faecalis* como regra "proporcional" e aplicável, considerando, portanto, dispensável provar a redução de parvovírus, desde que seja atestada a redução de *Ent. faecalis*.

O parvovírus é referido, na regulamentação aplicável aos SPOA, como o organismo indicador de teste para processos de tratamento térmico devido à sua elevada termotolerância, permitindo seguir o comportamento deste vírus ao longo de todo o processo. Contudo, para além das dificuldades de determinação do parvovírus, vários argumentos (Elving, 2012) têm surgido no sentido de serem utilizados outros vírus com comportamentos mais semelhantes aos vírus patogénicos que podem estar presentes na matriz a ensaiar. Tais considerações resultam do facto do parvovírus ser um indicador de teste demasiado conservador comparativamente à maioria dos vírus patogénicos. Supletivamente, a utilização do parvovírus em testes em grande escala requer cuidados operacionais acrescidos devido à sua patogenicidade e termorresistência (Emmoth, 2010).

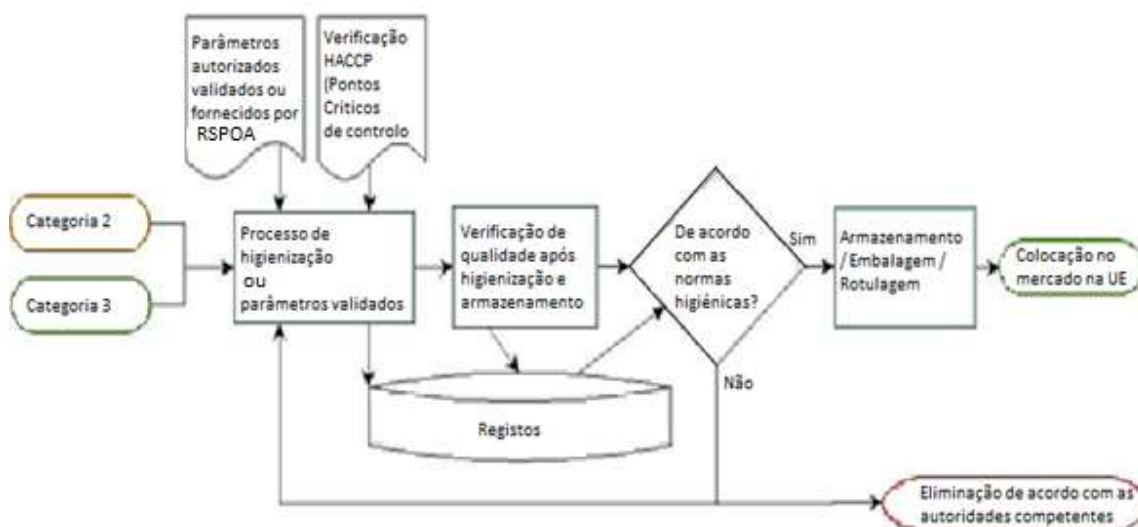
## CAPÍTULO 5 – BREVE ABORDAGEM AO HACCP

### 5.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este capítulo fornece uma visão geral da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo, aplicável a instalações de compostagem. O artigo 29º do Regulamento (CE) n.º 1069/2009 exige que os operadores de instalações de transformação de subprodutos animais em composto ou biogás possuam e mantenham um plano de HACCP (**H**azard **A**nalysis and **C**ritical **C**ontrol **P**oint). A regulamentação para os SPOA adota este sistema que identifica, avalia e controla os perigos que são significativos, o qual foi originalmente desenvolvido para a segurança alimentar. O HACCP deve ser parte integrante do sistema de garantia de qualidade de uma instalação de compostagem e envolve uma série de passos distintos:

1. Realizar uma análise de perigos.
2. Determinar os Pontos Críticos de Controlo (PCCs).
3. Estabelecer Limites Críticos (LCs).
4. Estabelecer um sistema para monitorizar o controlo dos PCCs.
5. Estabelecer as medidas corretivas a serem tomadas quando a vigilância indicar que um determinado PCC não está sob controlo.
6. Estabelecer procedimentos de verificação para confirmar que o sistema HACCP está a funcionar de forma eficaz.
7. Estabelecer documentação relativa a todos os procedimentos e registos adequados, garantindo a sua aplicação.

As fases acima descritas são apresentadas esquematicamente na **Figura 5.1**.



**Figura 5.1** - Sistema de garantia de qualidade, incluindo HACCP (adaptado de ECN e.V, 2013)

O sistema de monitorização e controlo deve abranger medidas de acompanhamento e supervisão contínua que dependerão das conclusões da análise de perigos e avaliação de riscos. Parâmetros típicos para monitorizar num programa de controlo são, por exemplo, a temperatura, o tamanho das partículas, tempo de exposição, o conteúdo de matéria seca, a tipologia, tamanho e proporção de material estruturante, oxigénio, CO<sub>2</sub> e pH. O sistema HACCP é uma ferramenta importante, mas a sua conceção e implementação requerem um compromisso empenhado dos operadores das unidades de compostagem. Um plano de HACCP implementado permite mostrar junto das entidades responsáveis pela inspeção ou aprovação, um formato padrão para avaliação do sistema de operação da instalação, demonstrando, através de evidências documentais, a realização e a conformidade das medidas definidas.

## **5.2 ANÁLISE DE PERIGOS E IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLO**

Ao operador da instalação de compostagem compete enumerar os pontos críticos de controlo do sistema, medição e monitorização, de forma a evidenciar a sua conformidade e que ação corretiva será executada, no caso de um ponto crítico de controlo falhar. Assim, se durante o processo de transformação dos SPOA ocorrer um incidente, o explorador deve ser capaz de isolar cada lote de produto, proceder ao seu reprocessamento ou eliminá-lo através de uma via devidamente autorizada.

Como regra primordial, os perigos associados aos SPOA estão identificados e geralmente caracterizados pela categorização definida na regulamentação aplicável. A identificação e análise de perigos do material à entrada é uma prática essencial para os operadores das instalações, ao definir objetivamente as categorias que estão autorizadas a entrar na unidade de compostagem. A exploração deve ter em consideração os requisitos da avaliação de risco, documentando o seguinte (adaptado de ECN e.V, 2013):

- listagem do tipo de material que pode ser processado na instalação;
- classificação de acordo com a categoria e o tipo de material especificado no regulamento aplicável aos subprodutos animais;
- identificação, de acordo com o tipo de material, dos requisitos mínimos de higiene do processo (por exemplo, tempo/temperatura para uma redução de 5 ciclos logarítmicos do organismo indicador). Os parâmetros de tempo e temperatura devem ser considerados, sempre, um ponto crítico de controlo e de monitorização, sendo o armazenamento da informação, obtida ao longo de todo o processo, essencial;
- identificação dos agentes patogénicos relevantes, e sua probabilidade de presença, de acordo com os subprodutos animais rececionados;
- descrição detalhada do processo de tratamento, com referência à transformação do material nas diferentes fases; o documento deve igualmente especificar quais os parâmetros

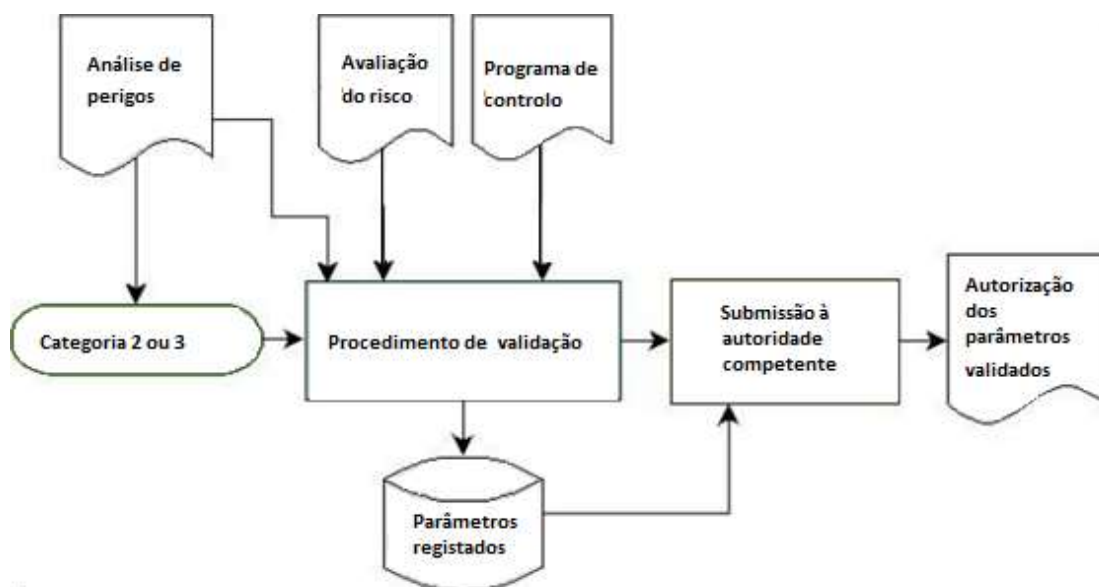
considerados críticos (PCCs) para obter a higienização, em que etapa devem ser cumpridos e respetivo sistema de monitorização;

- enumeração das medidas corretivas a tomar quando o processo de higienização não é bem sucedido.

De forma a reduzir-se qualquer situação de (re)contaminação, as instalações de processamento de subprodutos animais devem operar sempre numa base de fluxo unidirecional, ou seja, desde a receção dos materiais até à fase final (produto acabado).

O HACCP deve contemplar um programa de controlo de pragas, documentado, com referência às medidas preventivas contra aves, roedores, insetos e outros animais nocivos e que carecem ser sistematicamente realizadas. A análise dos perigos deve abranger ainda situações anómalas que possam afetar o processo de higienização e/ou os parâmetros críticos descritos no plano HACCP. Situações atípicas podem incluir falha de energia, avaria ou falha de equipamentos, abarcando os associados à monitorização, entre outros. No caso de processos com parâmetros de transformação alternativos é importante assegurar que as evidências são recolhidas e que os elementos constantes do plano de HACCP são eficazes através de um procedimento designado de "validação".

A **Figura 5.2** mostra de forma esquemática a aplicação de um plano HACCP para processos sujeitos a validação.



**Figura 5.2** – Conceção de um plano HACCP para unidades de compostagem sujeitas a validação (adaptado de ECN e.V, 2013)

### **5.3 PLANO HACCP PARA A CVO**

No âmbito desta tese, da aplicação da regulamentação associada à receção e tratamento de SPOA e, tendo por base o exposto neste capítulo, desenvolveu-se uma proposta, em conjunto com o explorador, de plano HACCP para a CVO. Os biorresíduos são segregados na fonte pelos produtores mas, devido a erros na separação podem surgir materiais indesejáveis, tais como plásticos, metais, pedras, papel, têxteis, etc.. Estes contaminantes físicos podem, em teoria, entrar na cadeia alimentar e representar um risco. No caso dos perigos microbiológicos, a abordagem centrou-se nos perigos relacionados com o processamento dos biorresíduos e com a utilização do composto. No caso dos perigos químicos, os biorresíduos poderão conter metais pesados, pesticidas. Em resumo, os perigos considerados foram: perigos microbiológicos, plásticos, metais, pedras, vidro, papel/têxteis, outros contaminantes físicos, e perigos químicos.

A classificação atribuída ao risco resultou da combinação entre a probabilidade de identificação dos perigos e os possíveis efeitos dos mesmos. No caso dos perigos microbiológicos o risco foi considerado elevado, sendo que nos restantes casos os riscos foram classificados de nível baixo. O risco de nível elevado foi analisado, para cada fase do processo, por aplicação da árvore de decisão para determinação dos PCCs. Sendo os perigos microbiológicos controlados no processo de compostagem através de uma determinada combinação tempo/temperatura, este aspeto consiste numa medida desenhada especificamente para eliminar o referido perigo, sendo, por isso, um PCC para o qual foram estabelecidos os limites críticos, os procedimentos de monitorização e as ações corretivas necessárias.

## CAPÍTULO 6 - VALIDAÇÃO DOS PARÂMETROS DE TRANSFORMAÇÃO ALTERNATIVOS NA CVO

### 6.1 ENQUADRAMENTO

A Central de Valorização Orgânica da Lipor (CVO) procede à valorização de biorresíduos, incluindo subprodutos de origem animal, convertendo-os em composto. Associado aos possíveis riscos para a saúde humana e animal, decorrentes do tratamento de SPOA, foi dado cumprimento aos requisitos previstos na legislação europeia nesse âmbito, com vista a garantir a segurança microbiológica do processo e do produto final.

A regulamentação da UE para SPOA prevê a adoção de métodos alternativos. O procedimento de validação para um sistema de compostagem com parâmetros de transformação alternativos encontra-se detalhado no Regulamento (UE) n.º 142/2011, com as alterações introduzidas pelo Regulamento (UE) n.º 2015/9. As instalações que se dediquem ao tratamento de SPOA devem cumprir uma das seguintes condições:

- a) o produto deve ser tratado termicamente durante 1 hora a 70 °C com uma granulometria máxima de 12 mm;

ou

- b) o método de tratamento deve ser validado e deve ser demonstrado que o processo atinge uma redução do risco global, ou seja, uma redução mínima de  $5\log_{10}$  para *S. Senftenberg* (775W H<sub>2</sub>S negativo) ou *Ent. faecalis*, alcançada através do processo de tratamento efetuado na instalação. Nos casos em que os vírus termorresistentes, como parvovírus, são identificados como um perigo relevante, deve também ser demonstrada uma redução de 3 ciclos logarítmicos desses organismos.

Os vírus termorresistentes são considerados um perigo relevante, nomeadamente em instalações de processamento de estrumes ou chorumes (de suínos, p. ex.), situação que não ocorre na CVO, pelo que não se atentou pertinente efetuar a verificação da redução de 3 ciclos logarítmicos para o parvovírus. Contudo, e tal como referido no **Capítulo 4** desta monografia, recorreu-se à correlação entre *Enterococcus* e vírus termorresistentes (Amlinger e Barth, 2010), ou seja, a confirmação de uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *Ent. faecalis* como regra "proporcional" e aplicável para atestar a redução de 3 ciclos logarítmicos para parvovírus.

O processo de compostagem da CVO utiliza parâmetros de transformação distintos dos previstos pelo Regulamento (CE) n.º 1069/2009, especificamente tempo, temperatura e granulometria das partículas, sendo necessário, por isso, proceder à validação do método de tratamento e demonstrar

que o processo alcança uma redução do risco global. A validação do processo de compostagem foi realizada com o organismo de teste *Ent. faecalis* estirpe ATCC 29212. O procedimento foi desenvolvido com o intuito de confirmar a erradicação do organismo selecionado, em condições análogas às condições reais do processo, no interior dos túneis de compostagem da CVO. A validação dos parâmetros de transformação alternativos inerentes ao sistema de compostagem na CVO foi realizada por uma entidade externa, acreditada para o efeito, Elsinga Policyplanning and Innovation BV., tendo o procedimento experimental sido devidamente acompanhado, nas suas diversas fases, pela Lipor e entidade responsável pela exploração. O programa experimental foi proposto pela Lipor, mediante o regime de funcionamento da instalação e, tendo por base, garantir a representatividade do mesmo.

Considerando que a CVO se encontra a laborar num regime sem flutuações significativas em termos da tipologia de materiais rececionados e quantidades processadas, tomou-se como base para a validação dos parâmetros de transformação, a operação que ocorre numa semana, nos vários túneis de compostagem. Tal pressuposto suportou-se no facto da afluência diária das cargas à CVO apresentar, de acordo com o histórico de funcionamento e respetivos registos de entrada, uma constância semanal, podendo, por isso, ser replicada a essa escala. Assim, definiu-se o esquema de funcionamento semanal como representativo para o processo de validação.

A execução experimental decorreu na semana 9, entre 23 e 27 de fevereiro de 2015.

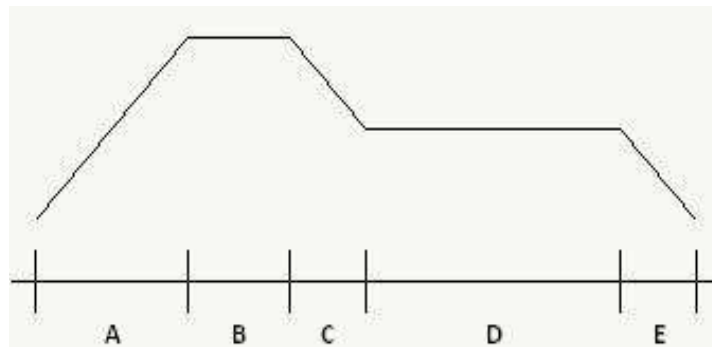
## **6.2 BREVE DESCRIÇÃO DA CENTRAL DE VALORIZAÇÃO ORGÂNICA DA LIPOR**

A CVO insere-se no complexo da Lipor em Baguim do Monte, Gondomar, dispondo de uma capacidade anual para tratar 60.000 toneladas de biorresíduos. Todos os resíduos processados na instalação são oriundos de circuitos de recolha seletiva. A área fabril inclui, genericamente, um pré-tratamento, a decomposição aeróbia da fração orgânica, que decorre em sistema multi-túnel, a remoção de materiais indesejáveis ao processo (contaminantes) e o acondicionamento e preparação do produto final (composto) para comercialização. A CVO dispõe de 18 túneis, em betão, com arejamento forçado por insuflação. O ar é retirado do interior dos túneis através de ventiladores individuais e encaminhado para o respetivo processo de desodorização. Os parâmetros críticos do processo de compostagem (temperatura, caudal de ar/oxigénio e humidade) são controlados de forma permanente, mediante *software* específico.

A mistura a compostar é constituída por resíduos orgânicos (restos de cozinha, resíduos de mercados, resíduos ou refugos de indústrias agroalimentares), resíduos verdes previamente triturados e refugos do processo (material lenhoso). A mistura inicial é colocada nos túneis de 1.ª fase (túneis de pré-compostagem) mediante um sistema automático de enchimento. Os túneis são cheios em sistema de camadas sobrepostas, através de um espalhador existente no equipamento de

enchimento, até uma altura máxima de cerca de 2,5 m. A quantidade total da mistura inicial a compostar varia entre 220 a 270 toneladas, por túnel, dependendo da densidade da mesma. A composição da mistura inicial é constituída por, aproximadamente, 80 a 100 toneladas de resíduos orgânicos, 70 a 90 toneladas de resíduos verdes triturados e 70 a 80 toneladas de refugos do processo (material lenhoso já sujeito a, pelo menos, uma fase de compostagem).

O sistema multi-túnel opera de forma descontínua (sistema “*batch*”) e em duas fases sequenciais de compostagem (designadas de pré e pós-compostagem, 1ª e 2ª fases, respetivamente). Cada fase decorre durante 14 dias consecutivos, possuindo, cada uma, uma etapa de higienização a 60 °C durante 48 horas seguidas. No final de cada fase de compostagem o material é retirado, passando através de um sistema de tratamento mecânico (crivagem e retirada de contaminantes inorgânicos). Cada fase possui cinco etapas conforme esquema apresentado na **Figura 6.1**.



**Figura 6.1** – Representação esquemática das etapas que ocorrem em cada fase de compostagem em túnel, CVO.

**Legenda:**

- A. 1.ª etapa – Arranque/Aquecimento;
- B. 2.ª etapa – Pasteurização/Higienização, 60 °C durante 48 horas;
- C. 3.ª etapa – Arrefecimento;
- D. 4.ª etapa – Condicionamento;
- E. 5ª etapa – Arrefecimento.

Como síntese, na **Figura 6.2** apresenta-se esquematicamente o processo de compostagem da CVO e, por comodidade, os pontos definidos para a validação dos parâmetros de transformação alternativos.

## FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE COMPOSTAGEM - CVO LIPOR

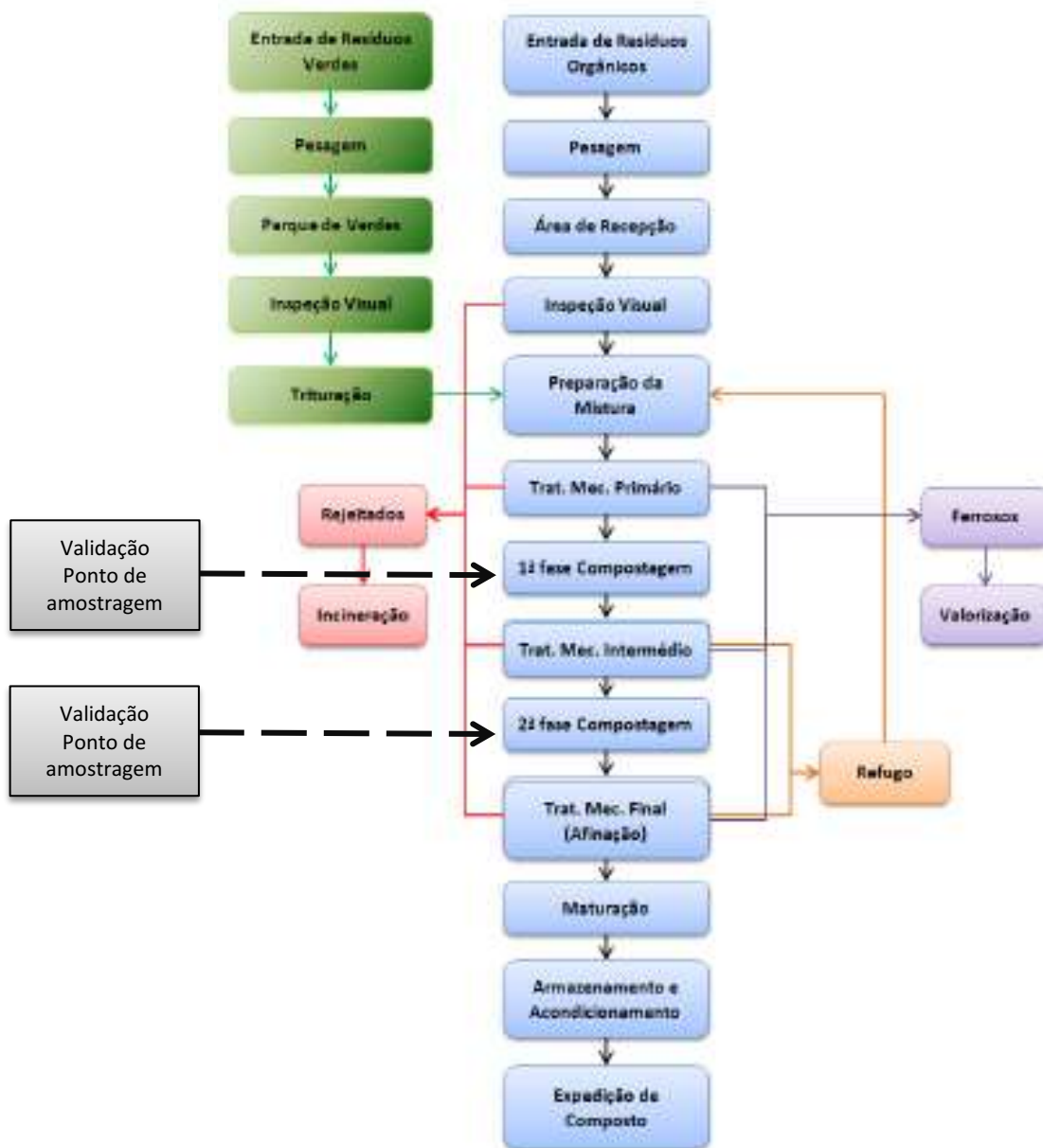


Figura 6.2 – CVO, fluxograma do processo de compostagem e pontos de validação

No **Apêndice I** faz-se uma descrição pormenorizada da unidade de compostagem, designadamente, características dos resíduos, descrição dos túneis de compostagem, descrição e controlo do processo de compostagem e monitorização.

### 6.3 METODOLOGIA ANALÍTICA

A metodologia utilizada baseou-se no procedimento padronizado e documentado na norma técnica holandesa (NTA 8777:2011, Norma holandesa relativa à validação do processo em instalações de processamento de chorumes e/ou outros tipos de subprodutos de origem animal em biogás ou composto) desenvolvida pela entidade Elsinga Policyplanning and Innovation BV. e pelo organismo de normalização holandês (NEN), de acordo com os requisitos do Regulamento (CE) n.º 1069/2009.

O modelo analítico para a validação dos parâmetros de transformação alternativos da CVO foi sustentado na inoculação do substrato (matriz) com um organismo indicador. O organismo de ensaio utilizado foi *Ent. faecalis* estirpe ATCC 29212, um membro da família *Enterococcaceae* e que pode ser facilmente quantificado em agar Slanetz e Bartley após 44 h e 48 h de incubação a 44 °C (NTA 8777:2011). *Enterococcus faecalis* foi utilizado por razões práticas, bem como por uma questão de segurança em geral, sendo que, usualmente já está presente no material alvo. O modelo analítico determina que as condições durante a experiência de validação sejam semelhantes, tanto quanto possível, às condições reais do processo.

De acordo com a norma NTA 8777:2011 foram cheios frascos de teste de 250 ml, esterilizados, com o material de entrada no túnel (mistura inicial) inoculado com a estirpe de *Ent. faecalis* predefinida. Os frascos foram expostos às condições reais do reator (processo de compostagem) durante um intervalo de tempo definido. As análises à concentração do conteúdo de *Ent. faecalis* nos frascos de teste, antes e depois da exposição, permitiram determinar o grau de inativação ocorrido ao longo do período experimental. De acordo com o estabelecido pela norma ISO 17020, a totalidade das análises laboratoriais foram realizadas em laboratórios acreditados (ISO 17025) especificamente para o tipo de análises em questão e respetivas matrizes. Todas as amostras foram transferidas para o laboratório em caixas refrigeradas, temperatura (5±3 °C), sendo as amostras analisadas até 30 horas após a amostragem (ensaio experimental).

O processo de compostagem alvo de validação foi realizado para tempos de exposição específicos, sendo os frascos de prova recuperados, em cada túnel selecionado, no mesmo ponto e no tempo predefinido. A fim de determinar se o tratamento de higienização (binómio tempo-temperatura) resultou numa erradicação suficiente de *Ent. faecalis*, a diminuição dos organismos indicadores de teste viáveis foi determinada subtraindo a média dos valores aferidos para as amostras no interior dos frascos de teste expostos às condições reais relativamente às amostras de referência.

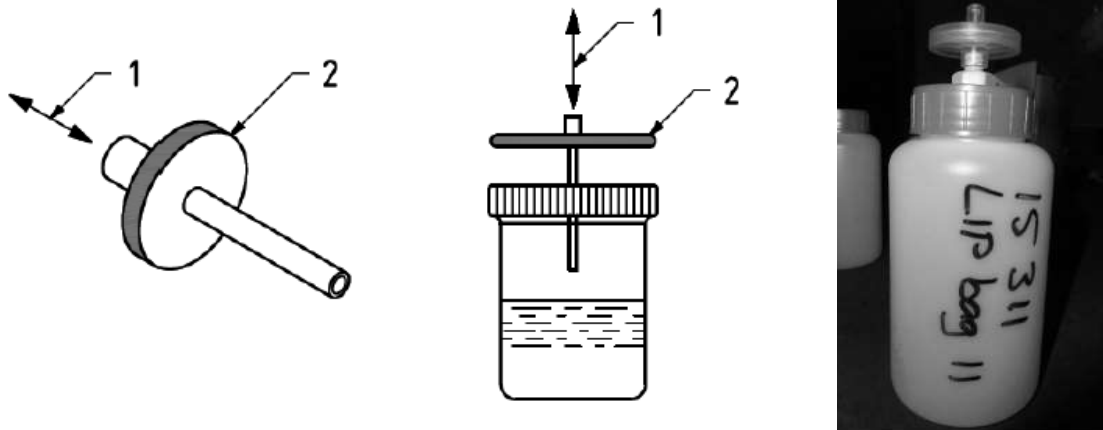
## **6.4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **6.4.1 MATERIAIS**

- Recipientes de plástico esterilizado (250ml) com tampa que permite a troca de gases através de uma membrana de filtro hidrofóbico (tamanho de poro de 0,2µm) de tal modo que não há contaminação microbiológica do conteúdo a partir do ambiente. Os frascos de prova/teste são

construídos de tal forma que a troca gasosa é garantida sem recontaminação biológica. A **Figura 6.3** apresenta o modelo utilizado nos ensaios da CVO.

- Rede (malha de cerca de 30 milímetros) para peneiramento.
- Sondas metálicas perfuradas para inserir os frascos de prova, tubo de inserção e fio de extração.
- Registador de temperatura



**Legenda:**

- 1 - troca de compostos gasosos
- 2 - filtro de membrana

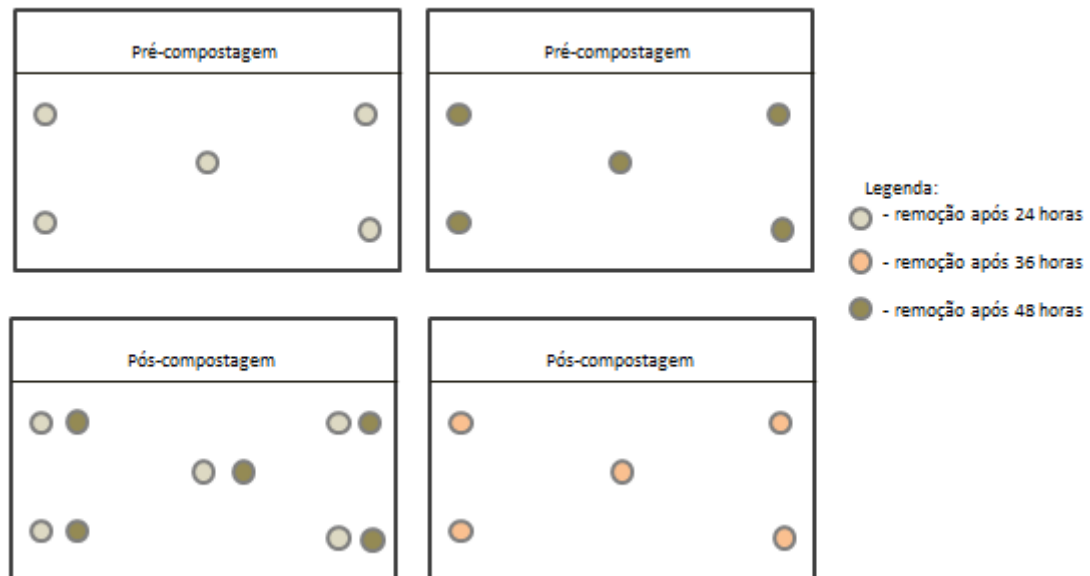
**Figura 6.3** – Esquema do recipiente esterilizado (frasco de prova/teste). A troca de compostos gasosos é possível através de um filtro de membrana; exemplo dos recipientes de teste utilizados nos ensaios de validação na CVO.

O meio de cultura utilizada foi um caldo líquido (“água peptonada tamponada” conforme NTA 8777:2011). O organismo indicador utilizado no processo de validação dos parâmetros de transformação alternativos foi *Ent. faecalis* estirpe ATCC 29212.

#### 6.4.2 MÉTODO

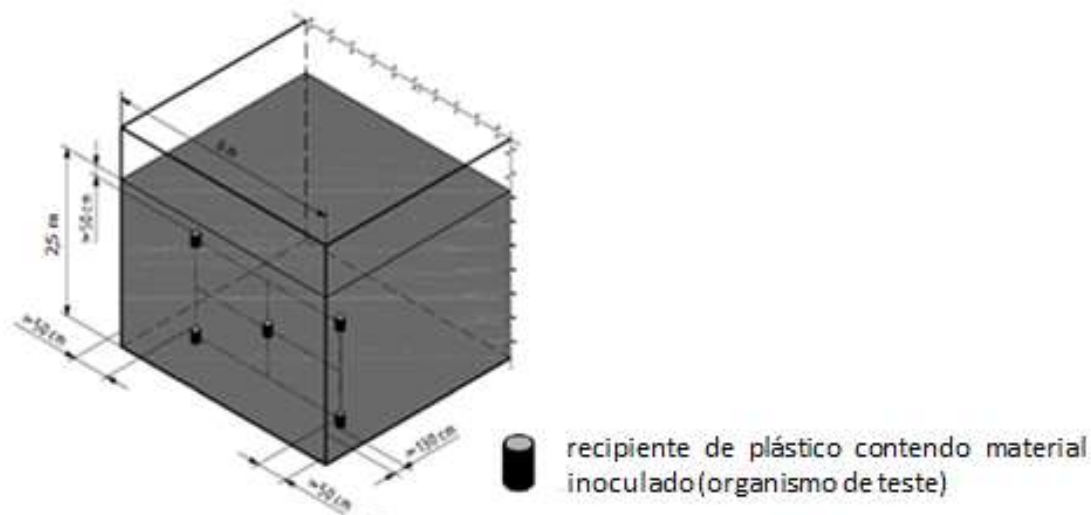
Relativamente ao procedimento de validação, os testes foram realizados durante a etapa de pasteurização da 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> fases de compostagem. O procedimento utilizado foi o mesmo para todos os ensaios. Como os túneis da 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> fase de compostagem são construídos e operados de forma idêntica, os resultados foram aplicados a todos os túneis de compostagem, recebendo o mesmo tipo de mistura inicial. Para garantir a representatividade no interior do túnel, a disposição dos cinco recipientes de teste (contendo a mistura inoculada com o organismo de teste), colocados no interior do conteúdo da massa de resíduos sujeita a compostagem, deve assegurar que as condições a que estão sujeitos no reator são as mais próximas do contexto real. A **Figura 6.4** reproduz a vista frontal

do posicionamento dos pontos de teste (sondas metálicas perfuradas contendo os recipientes de teste) nos túneis de pré-compostagem e pós-compostagem na CVO.



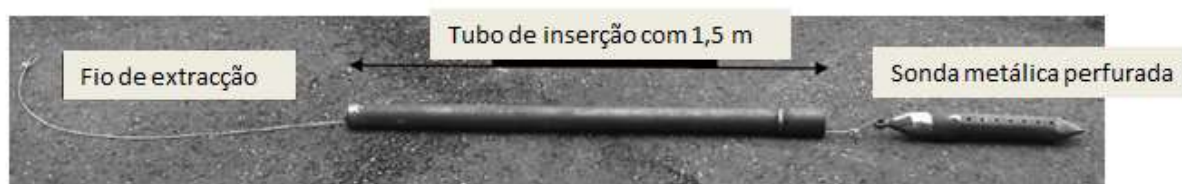
**Figura 6.4** – Esquema da vista frontal do posicionamento das sondas de aço perfuradas nos túneis de pré-compostagem e de pós-compostagem

Conforme verificado na **Figura 6.4**, o método experimental prevê uma disposição para as sondas numa configuração equivalente à face “5” de um dado, com cada um dos recipientes de teste, colocados a, pelo menos, 50 cm a partir do topo, do fundo e das paredes laterais do túnel. Em simultâneo e para garantir a fiabilidade do ensaio prático, os frascos de prova foram posicionados numa secção transversal do material a cerca de 130 cm a partir da extremidade de enchimento (“porta do túnel”). A **Figura 6.5** representa de forma esquemática a disposição padrão no interior dos túneis alvo de ensaio.



**Figura 6.5** – Esquema da colocação dos organismos de teste no interior dos túneis da CVO (adaptado de NTA 8777:2011)

As sondas metálicas perfuradas permitem ser introduzidas no material com um tubo de inserção conforme se mostra na **Figura 6.6**. As sondas, além de protegerem as amostras de teste das forças de compressão presentes no interior do material, são uma maneira rápida e fácil de inserir e extrair os recipientes de teste. As amostras são colocadas no interior das sondas perfuradas e, em seguida, o tudo de inserção é conduzido, com a ajuda de uma máquina (pá de rodas) para dentro do túnel. Verificando-se que a sonda se encontra na posição pretendida, o tubo de inserção pode ser subsequentemente recolhido a partir do material, deixando a sonda (e o recipiente de teste) no interior do túnel. No final do ensaio, após o tempo de exposição determinado, a sonda é retirada, puxando o fio de extração que foi deixado fora da extremidade visível do material de enchimento.



**Figura 6.6** - Sonda metálica perfurada, tubo de inserção e respetivo fio de extração

Para os túneis de pré-compostagem, de acordo com a metodologia, foram preparados três conjuntos de cinco recipientes de teste inoculados com o *Ent. faecalis*, os quais foram colocados nos túneis utilizando as sondas. Todos os recipientes de teste foram identificados, assim como as réplicas (três conjuntos de cinco recipientes de teste) de modo a determinar a concentração de referência em  $t = 0$  (início do período experimental). No momento  $t = 0$  as amostras de referência foram colocadas no frigorífico do laboratório da CVO. Para a validação do processo de compostagem foram produzidos

pelo laboratório KBBL 4 litros de meio de cultura inoculados com *Ent. faecalis*, tendo sido recolhida uma amostra e determinada a sua concentração inicial.

O método experimental para os túneis de pós-compostagem foi análogo, tendo sido colocados no túnel, com recurso às sondas, 15 recipientes de teste inoculados com *Ent. faecalis*. Todas as amostras foram numeradas, incluindo as amostras de referência (preparadas a partir da mistura inoculada para determinar a concentração de referência a  $t = 0$ ). Como verificado para os ensaios de validação na pré-compostagem, no momento  $t = 0$  as amostras de referência foram colocadas no frigorífico do laboratório da CVO. Depois do tempo de exposição definido, as sondas foram retiradas do interior dos respetivos túneis, arrefecidas e os frascos de teste transferidos para um laboratório de análises externo. A expedição das amostras foi feita por via aérea por forma a garantir a sua análise até 30 horas após o ensaio.

Durante a fase experimental, a temperatura média no interior dos túneis de compostagem foi monitorizada, em contínuo, pelo computador associado ao processo, a qual resulta dos dados medidos pelos quatro sensores calibrados e colocados no interior da mistura. A temperatura medida, durante o ensaio, pelo sensor localizado mais perto dos pontos de teste (sondas metálicas perfuradas contendo no interior os recipientes de teste) foi o ponto de ajuste para a temperatura mínima a verificar em combinação com o tempo mínimo de retenção determinado. Foi selecionado esse sensor pela proximidade relativamente aos ensaios no interior do túnel de compostagem.

## 6.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A validação dos parâmetros de transformação da CVO foi realizada em três túneis de 1.<sup>a</sup> fase (pré-compostagem) e em um túnel de 2.<sup>a</sup> fase (pós-compostagem). A definição do número de túneis para ensaio teve por base, conforme referido, o planeamento semanal, atentando que a composição inicial e a operação não apresentam oscilações consideradas significativas. Em termos de operação da CVO, numa semana procede-se ao enchimento de cinco túneis de 1.<sup>a</sup> fase, pelo que se considerou como representativo, a verificação do comportamento do organismo de teste em três túneis. Como a 2.<sup>a</sup> fase de compostagem também possui uma etapa de higienização (análoga à que ocorre na 1.<sup>a</sup> fase) procedeu-se à verificação do comportamento do organismo de teste em um túnel. Em cada semana, encontram-se em operação 3 túneis de pós-compostagem. O planeamento inicial previa a amostragem em dois túneis de 2.<sup>a</sup> fase, contudo, devido ao cronograma disponível para a equipa de trabalho externa, foi necessário efetuar-se um reajuste. Assim, não sendo viável realizar o ensaio em dois túneis de 2.<sup>a</sup> fase (garantindo um tempo de exposição de 48 horas), foi opção verificar-se a evolução do comportamento do organismo de teste em diferentes períodos de exposição (24, 36 e 48 horas), na temperatura definida para higienização (60 °C). As sondas e respetivos recipientes de teste foram inseridos e removidos dos túneis de compostagem de acordo com o calendário apresentado na **Tabela 6.1**.

**Tabela 6.1** – Validação do processo de compostagem da CVO, cronograma de ensaios em túnel

Túnel n.º	1.ª Fase	1.ª Fase	1.ª Fase	2.ª Fase
	Pré-compostagem 60 °C	Pré-compostagem 60 °C	Pré-compostagem 60 °C	Pós- compostagem 60 °C
	Túnel 8	Túnel 12	Túnel 15	Túnel 3
Amostras retiradas após 24 h		√ 5 amostras		√ 5 amostras
Amostras retiradas após 36 h				√ 5 amostras
Amostras retiradas após 48 h	√ 5 amostras		√ 5 amostras	√ 5 amostras

Para os túneis de pré-compostagem, de acordo com o planeamento operacional da semana 9, foi removido um conjunto de cinco frascos de ensaio após 24 horas de tempo de residência e foram removidos dois conjuntos após 48 horas. Todas as amostras de teste e de referência foram identificadas. Para os túneis de pós-compostagem, de acordo com o planeamento operacional foi removido um conjunto de cinco sondas/frascos de ensaio após 24 horas, um conjunto após 36 horas e um conjunto após 48 horas. Todas as amostras de teste e de referência foram identificadas.

Seguidamente apresenta-se um resumo das etapas realizadas.

1. Receção e preparação dos materiais de apoio, nomeadamente sondas metálicas e frascos de teste esterilizados. As **Figuras 6.7, 6.8, 6.9 e 6.10** traduzem o descrito no parágrafo.



**Figura 6.7** - caixa refrigerada



**Figura 6.8** - material de apoio, incluindo termómetro



**Figura 6.9** - sondas metálicas perfuradas



**Figura 6.10** - sondas metálicas e fio de extração

2. Foi recolhido o material da mistura inicial a compostar; de forma a garantir uma adequada representatividade do material a ser introduzido no túnel de 1.<sup>a</sup> fase, a colheita das amostras (com pá) foi efetuada em diferentes pontos (cerca de 10 locais) da mistura inicial localizada no zona de pavimento arejado, conforme **Figuras 6.11 e 6.12**. O material recolhido nesses pontos foi peneirado manualmente com um crivo de malha de 30 mm (**Figuras 6.13 e 6.14**), obtendo-se cerca de 9 kg de material (dimensão das partículas < 30 mm), conforme apresentado na **Figura 6.15**; foi utilizado um balde plástico (cerca de 15 litros) e misturado conveniente e completamente o material. No caso da amostra combinada para a validação nos túneis de pós-compostagem, a preparação da amostra seguiu o mesmo protocolo, sendo que o material foi recolhido na trasfega (final da 1.<sup>a</sup> fase de compostagem, ou seja, ao fim de 14 dias em túnel).



**Figura 6.11** – recepção e preparação da mistura inicial



**Figura 6.12** – mistura inicial (1.<sup>a</sup> fase)



**Figura 6.13** – rede para peneiramento da amostra



**Figura 6.14** – preparação da amostra para inoculação

- Mistura da amostra global de 9 kg com 1 litro de suspensão *Ent. Faecalis* (aproximadamente  $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>), de modo a que o material fosse, homogênea e completamente, inoculado com uma concentração de *Ent. Faecalis* de aproximadamente  $10^7$  UFC.g<sup>-1</sup>. As **Figuras 6.16 e 6.17** mostram a o recipiente contendo o meio de cultura utilizado no processo e a sua adição ao material a compostar.



**Figura 6.15** - pesagem da amostra antes da inoculação



**Figura 6.16** - meio de cultura



**Figura 6.17** - adição do organismo de teste à mistura

- Para cada ensaio realizado foram transferidas 10 amostras de cerca de 50 g cada, a partir da mistura inoculada, para dez frascos de plástico devidamente esterilizados. Cinco recipientes, fechados com uma tampa ligada a uma membrana com porosidade de 0,2  $\mu$ m, serviram de amostra/organismos de teste, enquanto os outros cinco frascos funcionaram como amostras de referência para determinar a concentração inicial de enterococcus. Os recipientes de referência foram hermeticamente fechados com as tampas correspondentes e colocados de imediato no frigorífico a ( $5 \pm 3$  °C) para  $t=0$  (início do ensaio). De forma a evitar que os frascos com os organismos de teste se danificassem no interior do túnel, foram colocados nas respetivas sondas metálicas perfuradas. No caso do ensaio realizado no túnel de pós-compostagem, uma vez que foi utilizado o mesmo túnel nos diversos ensaios, o número de amostras preparadas foi de 10 amostras de referência e 15 amostras/organismos de teste. As **Figuras 6.18, 6.19 e 6.20** resumem o anteriormente exposto.



**Figura 6.18** - preparação das amostras de teste e de referência



**Figura 6.19** - conjunto de amostras e respetivas referências



**Figura 6.20** - colocação das amostras de teste na sonda perfurada

5. As sondas perfuradas com os frascos de teste no interior foram posicionadas no material em compostagem, de tal modo que representassem, o mais fielmente possível, as condições reais do processo a decorrer no túnel alvo de ensaio. As **Figuras 6.21**, **6.22** e **6.23** sintetizam o mencionado.



**Figura 6.21** - colocação das sondas metálicas no túnel



**Figura 6.22** - sondas e fios de extração em túnel de 1.ª fase



**Figura 6.23** - fios de extração identificados em túnel (fitas azuis)

- Os frascos de teste foram removidos em simultâneo, para verificar se a inativação requerida teve lugar durante o tempo de exposição definido. Na **Figura 6.24** apresenta-se o procedimento de abertura das sondas.



**Figura 6.24** - abertura das sondas metálicas após tempo de exposição

- De imediato, as amostras retiradas do interior do túnel foram transportadas e armazenadas no frigorífico do laboratório da CVO a uma temperatura ( $5 \pm 3$  °C). A **Figura 6.25** mostra um conjunto de frascos de teste após o período de exposição definido.



**Figura 6.25** - recipientes após período de exposição em túnel

As etapas sucintamente apresentadas foram realizadas, de forma idêntica, para os túneis selecionados para o processo de validação dos parâmetros de transformação alternativos, respetivamente, túnel n.º15, túnel n.º 8, túnel n.º 12 e túnel n.º 3. No caso da mistura sujeita a inoculação para a fase de pós-compostagem foi utilizado o material resultante da trasfega por oposição à mistura inicial usada nos túneis de 1ª fase.

## 6.7 RESULTADOS

Nesta secção detalham-se os resultados do trabalho experimental realizado. A concentração nos 4 litros de meio de cultura inoculados com *Ent. faecalis* na cultura enriquecida era superior a 8log UFC.g<sup>-1</sup>.

### 6.7.1 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DAS AMOSTRAS, PRÉ-COMPOSTAGEM

Os resultados das análises microbiológicas de *Enterococcus* spp. relativos aos ensaios efetuados na pré-compostagem apresentam-se nas **Tabelas 6.2, 6.3 e 6.4**. Os limites estabelecidos pela regulamentação europeia relativa aos SPOA consistem numa redução de 5 ciclos logarítmicos de *Enterococcus* spp.

<b>Tabela 6.2 - Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus</i> spp. Pré-compostagem</b>				
Código da amostra	Tempo entrada na compostagem	Tempo saída da compostagem	Tempo de residência na compostagem	<i>Enterococcus</i> Log UFC/g
15 306 LIP bag 1A	N.A. Estas são as amostras de referência em 15 307 que representa a concentração a t=0.  <b>Túnel 15 Pré-compostagem</b>			7,45
15 306 LIP bag 2A				7,46
15 306 LIP bag 3A				7,53
15 306 LIP bag 4A				7,30
15 306 LIP bag 5A				7,56
Média Amostras de Referência				7.46
15 307 LIP bag 1	24-2-2015, 11:30	26-2-2015, 11:30	48 horas	<0
15 307 LIP bag 2	24-2-2015, 11:30	26-2-2015, 11:30	48 horas	<0
15 307 LIP bag 3	24-2-2015, 11:30	26-2-2015, 11:30	48 horas	<0
15 307 LIP bag 4	24-2-2015, 11:30	26-2-2015, 11:30	48 horas	<0
15 307 LIP bag 5	24-2-2015, 11:30	26-2-2015, 11:30	48 horas	<0
Média Amostras				<0
Redução (log)				>7,46

<b>Tabela 6.3 - Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus</i> spp. Pré-compostagem</b>				
Código da amostra	Tempo entrada na compostagem	Tempo saída da compostagem	Tempo de residência na compostagem	<i>Enterococcus</i> Log UFC/g
15 308 LIP bag 6A	N.A. Estas são as amostras de referência em 15 309 que representa a concentração a t=0.  <b>Túnel 8 Pré-compostagem</b>			7,54
15 308 LIP bag 7A				7,57
15 308 LIP bag 8A				7,72
15 308 LIP bag 9A				7,74
15 308 LIP bag 10A				7,60
Média Amostras de Referência				7,60
15 309 LIP bag 6	25-2-2015, 9:30	27-2-2015, 9:30	48 horas	<0
15 309 LIP bag 7	25-2-2015, 9:30	27-2-2015, 9:30	48 horas	<0
15 309 LIP bag 8	25-2-2015, 9:30	27-2-2015, 9:30	48 horas	<0
15 309 LIP bag 9	25-2-2015, 9:30	27-2-2015, 9:30	48 horas	<0
15 309 LIP bag 10	25-2-2015, 9:30	27-2-2015, 9:30	48 horas	<0
Média Amostras				<0
Redução (log)				>7,60

<b>Tabela 6.4 - Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus</i> spp. Pré-compostagem</b>				
Código da amostra	Tempo entrada na compostagem	Tempo saída da compostagem	Tempo de residência na compostagem	<i>Enterococcus</i> Log UFC/g
15 314 LIP bag 26A	N.A. Estas são as amostras de referência em 15 315 que representa a concentração a t=0.  <b>Túnel 12 Pré-compostagem</b>			7,60
15 314 LIP bag 27A				7,41
15 314 LIP bag 28A				7,89
15 314 LIP bag 29A				7,66
15 314 LIP bag 30A				7,76
Média Amostras de Referência				7,66
15 315 LIP bag 26	26-2-2015, 8:45	27-2-2015, 8:45	24 horas	<0
15 315 LIP bag 27	26-2-2015, 8:45	27-2-2015, 8:45	24 horas	<0
15 315 LIP bag 28	26-2-2015, 8:45	27-2-2015, 8:45	24 horas	<0
15 315 LIP bag 29	26-2-2015, 8:45	27-2-2015, 8:45	24 horas	<0
15 315 LIP bag 30	26-2-2015, 8:45	27-2-2015, 8:45	24 horas	<0
Média Amostras				<0
Redução (log)				>7,66

### 6.7.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DAS AMOSTRAS, PÓS-COMPOSTAGEM

Os resultados das análises microbiológicas de *Enterococcus* spp. relativos aos ensaios efetuados na pós-compostagem apresentam-se nas **Tabelas 6.5 e 6.6**. Os limites estabelecidos pela regulamentação europeia relativa aos SPOA consistem numa redução de 5 ciclos logarítmicos de *Enterococcus* spp.

<b>Tabela 6.5 - Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus</i> spp. Pós-compostagem</b>				
Código da amostra	Tempo entrada na compostagem	Tempo saída da compostagem	Tempo de residência na compostagem	<i>Enterococcus</i> Log UFC/g
15 310 LIP bag 11A	N.A. Estas são as amostras de referência em 15 311 que representa a concentração a t=0.  <b>Túnel 3 Pós-compostagem</b>			7,15
15 310 LIP bag 12A				7,46
15 310 LIP bag 13A				7,23
15 310 LIP bag 14A				7,08
15 310 LIP bag 15A				7,04
Média Amostras de Referência				7,15
15 311 LIP bag 11	25-2-2015, 9:15	26-2-2015, 9:15	24 horas	<0
15 311 LIP bag 12	25-2-2015, 9:15	26-2-2015, 9:15	24 horas	<0
15 311 LIP bag 13	25-2-2015, 9:15	26-2-2015, 9:15	24 horas	<0
15 311 LIP bag 14	25-2-2015, 9:15	26-2-2015, 9:15	24 horas	<0
15 311 LIP bag 15	25-2-2015, 9:15	26-2-2015, 9:15	24 horas	<0
Média Amostras				<0
Redução (log)				>7,15
15 311 LIP bag 16	25-2-2015, 9:15	27-2-2015, 9:15	48 horas	<0
15 311 LIP bag 17	25-2-2015, 9:15	27-2-2015, 9:15	48 horas	<0
15 311 LIP bag 18	25-2-2015, 9:15	27-2-2015, 9:15	48 horas	<0
15 311 LIP bag 19	25-2-2015, 9:15	27-2-2015, 9:15	48 horas	<0
15 311 LIP bag 20	25-2-2015, 9:15	27-2-2015, 9:15	48 horas	<0
Média Amostras				<0
Redução (log)				>7,15

<b>Tabela 6.6 - Resultados das contagens microbiológicas de <i>Enterococcus</i> spp. Pós-compostagem</b>				
Código da amostra	Tempo entrada na compostagem	Tempo saída da compostagem	Tempo de residência na compostagem	<i>Enterococcus</i> Log UFC/g
15 312 LIP bag 21A	<p>N.A. Estas são as amostras de referência em 15 313 que representa a concentração a t=0.</p> <p><b>Túnel 3 Pós-compostagem</b></p>			8,00
15 312 LIP bag 22A				7,79
15 312 LIP bag 23A				7,83
15 312 LIP bag 24A				7,90
15 312 LIP bag 25A				7,92
Média Amostras de Referência				7,90
15 313 LIP bag 21	25-2-2015, 21:15	27-2-2015, 9:15	36 horas	<0
15 313 LIP bag 22	25-2-2015, 21:15	27-2-2015, 9:15	36 horas	<0
15 313 LIP bag 23	25-2-2015, 21:15	27-2-2015, 9:15	36 horas	<0
15 313 LIP bag 24	25-2-2015, 21:15	27-2-2015, 9:15	36 horas	<0
15 313 LIP bag 25	25-2-2015, 21:15	27-2-2015, 9:15	36 horas	<0
Média Amostras				<0
Redução (log)				>7,90

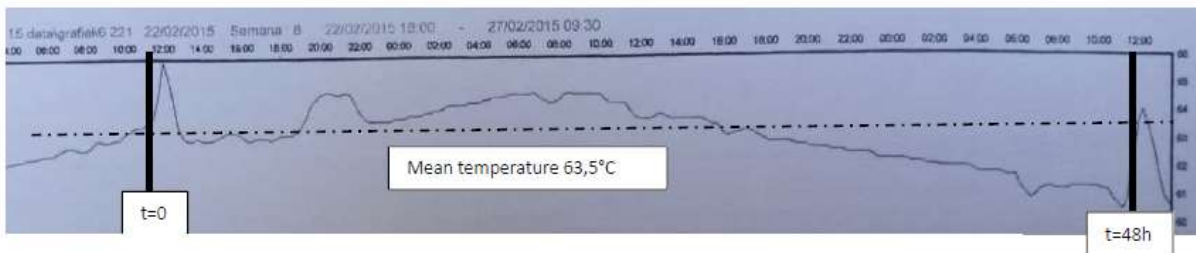
As amostras apresentadas na **Tabela 6.6** (série 15 313) têm as suas próprias amostras de referência. Uma vez que as amostras foram preparadas e colocadas no túnel 12 horas mais tarde do que as amostras apresentadas na **Tabela 6.5** (série 15 311), foi criado um novo conjunto de amostras de referência através da mistura de material pré-compostado (material resultante da trasfega) com cultura enriquecida em *Ent. faecalis*.

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que durante o tempo total de exposição, em ambas as fases de compostagem, foi atingida a redução de *Enterococcus* spp. pretendida.

### 6.7.3 TEMPERATURA NO INTERIOR DOS TÚNEIS DE COMPOSTAGEM

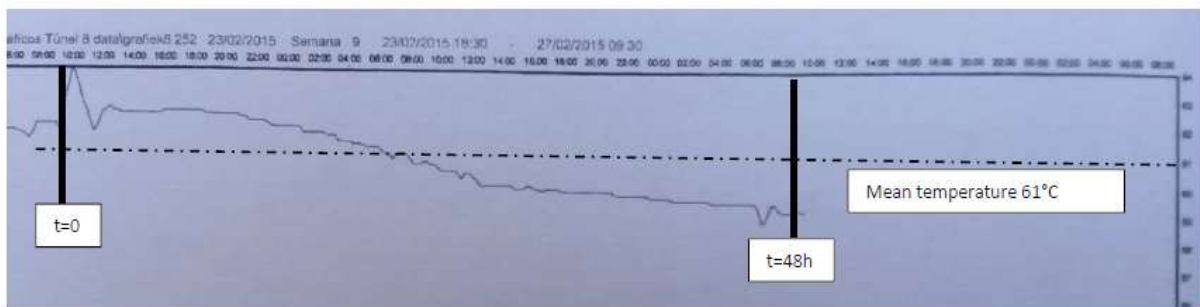
Um dos parâmetros fundamentais no processo de validação é a temperatura a que a massa de resíduos está sujeita. Assim, procedeu-se à sua monitorização conforme descrito em **6.4.2**. Apresenta-se seguidamente o conjunto de gráficos de temperatura retirados do *software* de suporte e relativos aos túneis alvo de estudo.

Para o túnel 15 de pré-compostagem a temperatura média na etapa de higienização (tempo de exposição de 48 horas) foi de 63,5 °C, conforme se verifica na **Figura 6.26**.



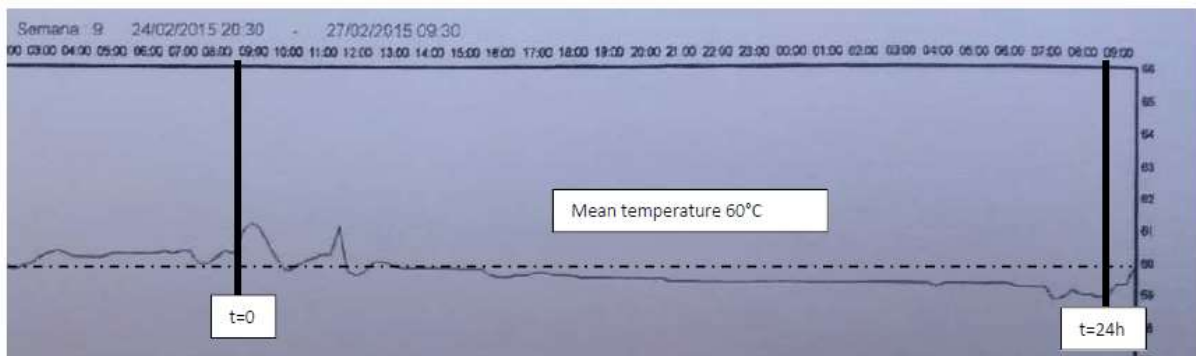
**Figura 6.26** - Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 15, fase pré-compostagem

No caso do ensaio realizado no túnel 8, também na fase de pré-compostagem, a temperatura média na etapa de higienização (48 horas) foi de 61 °C, conforme se apura na **Figura 6.27**.



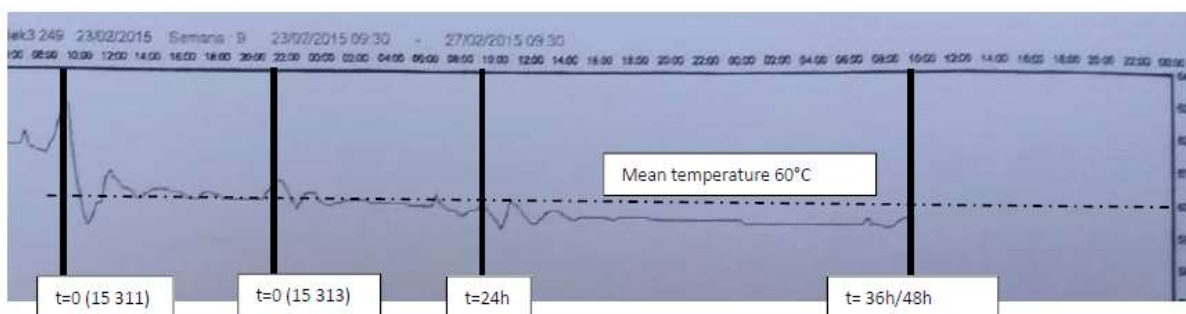
**Figura 6.27** - Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 8, fase pré-compostagem

O último ensaio realizado na fase de pré-compostagem foi realizado no interior do túnel 12, para um período de exposição, na etapa de higienização, de 24 horas. A temperatura média registrada foi de 60 °C, conforme se mostra na **Figura 6.28**.



**Figura 6.28** - Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 12, fase pré-compostagem

Os ensaios realizados na fase de pós-compostagem decorreram no túnel 3, apresentando-se na **Figura 6.29**, o gráfico de temperatura durante a etapa de higienização nos três períodos de exposição distintos (24, 36 e 48 horas, respetivamente). A temperatura média foi de 60 °C.



**Figura 6.29** - Gráfico de temperatura, no período do estudo, túnel 3, fase pós-compostagem

#### 6.7.4 RESUMO DOS RESULTADOS

A **Tabela 6.7** apresenta um resumo dos resultados obtidos vários ensaios realizados, incluindo as medições de temperatura.

<b>Tabela 6.7 – Resumo dos resultados obtidos</b>				
Túnel nº	Fase do processo de compostagem	Média amostras de referência (log UFC.g <sup>-1</sup> )	Redução (log <sub>10</sub> )	Temperatura média durante o estudo
15	Pré-compostagem 48 horas	7,46	>7,46	63,5 °C
8	Pré-compostagem 48 horas	7,60	>7,60	61 °C
12	Pré-compostagem 24 horas	7,66	>7,66	60 °C
3	Pós-compostagem 24/48 horas	7,15	>7,15	60 °C
3	Pós-compostagem 36 horas	7,90	>7,90	60 °C

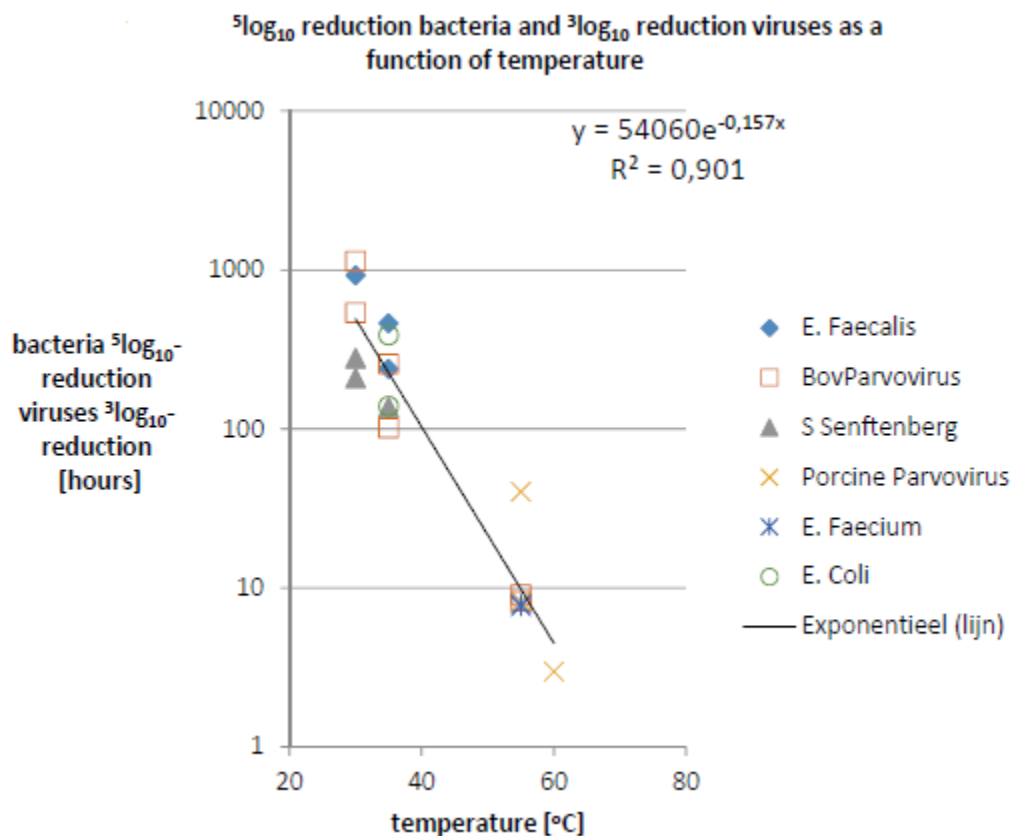
Foi medida a temperatura por registradores de dados (termómetro). A variação verificada entre os valores medidos pelo termómetro e pelo próprio sistema de medição de temperatura do processo (sondas de temperatura) não foi considerada relevante, sendo que os valores mais elevados foram registados no termómetro e os túneis de pré-compostagem n.º8 e n.º15 apresentaram alguma oscilação de temperatura ao longo do ensaio (48 horas), o que poderá ter contribuído para essa diferença. Na **Tabela 6.8** apresenta-se a comparação dos dados obtidos para a medição da temperatura nos ensaios realizados conforme o método utilizado (sondas do túnel e termómetro).

Tabela 6.8 – Comparativo dos dados obtidos para a medição da temperatura				
Túnel n.º	Fase de compostagem	Temperatura média durante o estudo medida pelo computador de processo	Temperatura média durante o estudo medida por registradores de dados (termómetro)	Diferença de temperatura (registorador de dados - computador de processo)
15	Pré-compostagem 48 h	63,5 °C	65,2 °C	1,7 °C
8	Pré-compostagem 48 h	61 °C	63,2 °C	2,2 °C
12	Pré-compostagem 24 h	60 °C	60 °C	0 °C
3	Pós-compostagem 24/36/48 h	60 °C	60,4 °C	0,4 °C

#### 6.7.5 COMPARAÇÃO ENTRE VÍRUS TERMORRESISTENTES E *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

Tal como já referido nesta dissertação, em instalações como a CVO que rececionam biorresíduos separados na origem, os vírus termorresistentes, como parvovírus, não são considerados um perigo relevante, não sendo, por isso, necessário demonstrar a respetiva redução de 3 ciclos logarítmicos. No caso específico da CVO, para o processo de validação dos parâmetros de transformação alternativos, esse tópico não foi, assim, considerado pertinente, uma vez que os subprodutos animais sujeitos a compostagem não incluem estrumes de origem bovina ou suína.

No ponto 4.4.2 desta monografia refere-se a correlação entre organismos indicadores. Assim, Amlinger e Barth (2010) sugerem, por razões práticas e de uniformidade, a demonstração de uma redução de 5 ciclos logarítmicos de *Ent. faecalis* como regra "proporcional" e aplicável, para evidenciar a diminuição de parvovírus. Na **Figura 6.30** destaca-se a relação entre a redução de 5 ciclos logarítmicos para microrganismos com uma resistência ao calor semelhante, tais como *Salmonella* ou *Ent. faecalis*, e a redução de 3 ciclos logarítmicos para os vírus resistentes ao calor, tais como parvovírus.



**Figura 6.30** - Redução de  $5\log_{10}$  para bactérias e de  $3\log_{10}$  para vírus, em função da temperatura (Elsinga BV, adaptado de EFSA, 2005)

Conclui-se que o binómio tempo/temperatura necessário para uma redução de 3 ciclos logarítmicos em PVB e PVP é, aproximadamente, o mesmo que é necessário para um abaixamento de 5 ciclos logarítmicos em bactérias, tais como *S. Senftenberg*, *Ent. faecalis* e *E. coli*.

No caso da CVO foi demonstrada uma redução superior a 7 ciclos logarítmicos para *Ent. faecalis*, pelo que se considera assegurada, de acordo com o pressuposto recolhido pela literatura (Amlinger, Barth, 2010; EFSA, 2005), a redução de 3 ciclos logarítmicos em parvovírus, caso fosse considerado um perigo relevante.

#### 6.7.6 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos para a validação dos parâmetros de transformação alternativos em uso na CVO comprovam o grau de higienização elevado do processo, pois verificou-se um nível constante de *Ent. faecalis* nas amostras de referência superior  $7\log_{10}$ . Além disso, todas as amostras do processo mostraram uma redução completa apresentando níveis inferiores a 1 unidade de formação de colónias por grama ( $1\text{ UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Com tais resultados, evidenciou-se a uma redução superior a 7

ciclos logarítmicos em todos os ensaios realizados (1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> fases de compostagem ou pré e pós-compostagem, respetivamente), e em todos os tempos de residência (24, 36 e 48 horas). Os requisitos da regulamentação para os SPOA exigem uma redução  $> 5\log_{10}$ . A redução de *Enterococcus* spp. encontra-se, por isso, dentro dos limites, conforme as exigências do Regulamento (CE) n.º 1069/2009 relativo aos SPOA. A diminuição verificada foi atingida na pré-compostagem, após um tempo de residência de 24 horas, a uma temperatura média de 60 °C. O decréscimo pretendido foi também atingido na fase de pós-compostagem, após um tempo de residência de 24 horas, a uma temperatura média de 60 °C. Os requisitos do processo (ponto crítico de controlo) propostos à entidade nacional responsável, Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), de modo a que a Central de Valorização Orgânica seja capaz de garantir a segurança microbiológica do produto final são apresentados no parágrafo seguinte.

Na 1.<sup>a</sup> fase de compostagem, a CVO deverá cumprir os seguintes requisitos, por forma a garantir o cumprimento do Regulamento (CE) n.º 1069/2009:

- manter o tempo mínimo de residência de 24 horas nos túneis de pré-compostagem;
- manter uma temperatura de 60 °C ou superior.

Na 2.<sup>a</sup> fase de compostagem, a CVO deverá cumprir os seguintes requisitos para assegurar o cumprimento do Regulamento (CE) n.º 1069/2009:

- manter o tempo mínimo de residência de 24 horas nos túneis de pós-compostagem;
- manter uma temperatura de 60 °C ou superior.

Contudo, no pedido efetuado junto da DGAV foi opção da Lipor manter como preceitos para o binómio tempo/temperatura, um tempo de exposição de 48 horas a 60 °C, em ambas as fases, uma vez que foram estes os pressupostos que fundamentaram a seleção pela tecnologia GICOM, sistema multi-túnel. Importa referir que a validação dos parâmetros de transformação alternativos da CVO mereceu já a autorização por parte da DGAV, possibilitando que a instalação processe misturas contendo SPOA nas condições acima descritas.

No âmbito do estudo foi também verificado no produto final (composto) o nível de *Ent. faecalis*, no sentido de se detetar qualquer situação de crescimento do referido organismo patogénico, após a conclusão do processo de compostagem. Os valores obtidos ( $< 1,0 \times 10^1 \text{ g}^{-1}$ ) demonstraram que não houve crescimento de *Ent. faecalis*, o que traduz um grau de estabilização (e maturação) elevado do composto, não permitindo qualquer fenómeno de repovoamento. De acordo com as análises efetuadas ao composto, o teor de humidade encontrava-se abaixo de 30% (valor obtido em laboratório externo de 27,53%) e a razão C:N (indicador nutricional) inferior a 15, mais especificamente, 10,49 (resultado obtido em laboratório da CVO). Assim, quer a humidade quer a disponibilidade de nutrientes apresentavam valores tais, que as condições existentes no composto em armazém eram impeditivas para um novo crescimento de agentes patogénicos.

No **Apêndice II** apresenta-se um conjunto de dados de suporte ao processo de validação, destacando-se a composição média dos túneis alvo de ensaiados, os valores obtidos para os parâmetros de referência nas fases de pré e pós-compostagem.

## CAPÍTULO 7 – CONCLUSÃO

### 7.1 PRINCIPAIS CONSTATAÇÕES

Este trabalho permitiu contactar, estudar e analisar criticamente todo um conjunto abrangente e multidisciplinar de informação relacionada com a compostagem, técnica ancestral de tratamento de resíduos. A diversidade e densidade dos estudos científicos consultados possibilitaram uma melhor compreensão do processo operado na CVO, possibilitando criar uma interligação permanente e profícua entre os conceitos teóricos e a componente prática.

Ao nível dos temas pesquisados constata-se alguma pluralidade de opiniões, em especial nos assuntos relacionados com a inativação de agentes patogénicos, processo de compostagem e higienização do composto e as imposições definidas pela UE para o processamento de SPOA. A definição dos requisitos plasmados no Regulamento (CE) n.º 1069/2009 não reúne, até à data, consenso, uma vez que o padrão proposto (70 °C, 1 hora, 12 mm) é derivado de processamento de alimentos, não traduzindo, nem incorporando integralmente, os princípios para um processo de compostagem eficiente.

A comprovação de redução de vírus é também alvo de discussão, quer pelo indicador definido (parvovírus), quer pela dualidade de critérios que poderão existir para sustentar a sua presença ou não, e a sua relevância como um perigo, uma vez que a regulamentação em vigor deixa a decisão para as autoridades competentes de cada EM.

Verificou-se ainda uma abordagem distinta entre os EM no que concerne à investigação desenvolvida e aplicação prática da regulamentação respeitante aos SPOA. Alemanha, Áustria, Reino Unido, Irlanda, Holanda e os países escandinavos são responsáveis por diversos trabalhos científicos, disponibilizando nomeadamente guias práticos para os operadores de unidades de compostagem, situação que não se verifica a nível nacional, originando situações díspares ao nível do cumprimento das exigências impostas e colocando em causa a segurança microbiológica dos produtos resultantes da compostagem. O fator escala, traduzido por um número reduzido de unidades de compostagem, com diferentes tecnologias, responsáveis pelo processamento de resíduos orgânicos, envolvendo SPOA, poderá ser uma das justificações para tal orientação.

Uma análise aprofundada e alargada dos dados disponíveis na literatura, suportada por ensaios à escala industrial quando viável, permitiria aumentar o conhecimento associado a taxas de inativação de agentes patogénicos para diferentes matrizes, resultando em práticas operacionais mais consistentes e garantindo a produção de compostos seguros para o ambiente.

## **7.2 LIMITAÇÕES DO ESTUDO**

O trabalho desenvolvido pretendeu efetuar uma pesquisa dos estudos existentes para a temática dos subprodutos animais e o seu tratamento por compostagem, aferindo os requisitos colocados pela regulamentação europeia em vigor. Uma das limitações encontradas prendeu-se com a dificuldade em realizar o processo de validação dos parâmetros de transformação alternativos através de uma entidade nacional aprovada pelas autoridades competentes, situação que possibilitaria a realização de um período mais extenso, no tempo, de ensaios em túnel.

Sendo uma área ainda escassamente desenvolvida a nível nacional, a definição da metodologia e procedimento experimental foram suportados nos regulamentos vigentes, e na sua interpretação, e na pesquisa bibliográfica realizada para a dissertação, além da consulta a entidades externas responsáveis pela execução de processos de validação em unidades de compostagem e/ou digestão anaeróbia em países como Holanda, Áustria, Reino Unido, Irlanda. A nível nacional foram estabelecidos contactos com sistemas de gestão de resíduos (em especial, Valorsul) no sentido de possibilitar alguma troca de experiência e informação sobre o tema/procedimento experimental. Contudo, verificou-se que as exigências apontadas pelas autoridades estatais responsáveis pela verificação do normativo aplicável aos SPOA, no caso específico de unidades de valorização orgânica, não apresentam uma atuação uniforme e exclusiva.

Outro facto a destacar traduziu-se na importância do setor responsável pelo tratamento de RU, manter um contacto de grande proximidade com a área investigacional, uma vez que o manancial de estudos alusivos à inativação de agentes patogénicos, fatores relevantes para que o processo de compostagem decorra de forma a garantir uma higienização do produto final, não constituindo um problema para a saúde humana ou animal, é abundante, ainda que nem sempre com os mesmos resultados/conclusões, o que releva, ainda mais, o vínculo permanente que deve existir entre tais meios (operacional/industrial e científico-tecnológico), possibilitando a realização de ensaios à escala industrial e a sua comparabilidade com testes à escala piloto ou ensaios laboratoriais e contribuindo para a resolução de constrangimentos nas unidades industriais. Para esta dissertação, a pesquisa bibliográfica assumiu um papel determinante, ainda que complementada casuisticamente com abordagens mais práticas, pelo que a capacidade de avaliar criticamente os estudos desenvolvidos e relacionar com o processo de compostagem alvo de validação prática (CVO) poderão ser comentáveis e, conseqüentemente, melhoradas.

## **7.3 PERSPETIVAS FUTURAS**

Considerando a estratégia europeia de gestão de RU e, em especial, a visibilidade expectável que os biorresíduos terão num futuro próximo, a valorização de subprodutos animais, nomeadamente os componentes presentes nos restos de cozinha ou similares, assume especial importância. A nível nacional a aposta que poderá ser feita em unidades de compostagem ou de digestão anaeróbia para

biórresíduos ainda não está perfeitamente sedimentada, uma vez que o PERSU 2020 não destaca a recolha seletiva deste fluxo como um pilar do tratamento dos RU, assim como a produção de compostos como um produto fundamental para os solos nacionais, desde que asseguradas as questões de qualidade e de proteção da saúde humana e animal.

Ao nível da prevalência de organismos patogénicos é importante ter em consideração que fatores ambientais, como as alterações climáticas ou fatores relacionados com os microrganismos, tais como, alterações genéticas originando, nomeadamente, bactérias e vírus cada vez mais termorresistentes, são cenários possíveis, exigindo, assim, processos de higienização e de validação também mais robustos. Mudanças de hábitos alimentares e de processamento de alimentos também devem ser estudados, pois podem influenciar o risco de transmissão de doenças.

Considerando a evolução da regulamentação aplicável aos SPOA, necessariamente cada vez mais restritiva, a nível nacional é fundamental existirem entidades aptas para realizar a validação de parâmetros de transformação alternativos para unidades de compostagem e digestão anaeróbia, possibilitando a verificação do cumprimento dos requisitos estabelecidos, mas também a comprovação, ao longo do tempo, da manutenção das condições de higienização do processo para misturas distintas das utilizadas aquando do processo de validação.

No caso concreto da CVO, e de forma a verificar e ratificar a informação reunida nesta dissertação e dando cumprimento ao exposto no Regulamento de execução (UE) n.º 142/2011 que veio proceder à implementação do Regulamento (CE) n.º 1069/2009, considera-se pertinente, no futuro, testar o comportamento de outros organismos indicadores como *S. Senftenberg* (775W, H<sub>2</sub>S negativo), nas condições ensaiadas para *Ent. faecalis*, possibilitando uma análise mais completa do processo de compostagem e, em particular, do grau de higienização, bem como aferir os resultados obtidos. Por outro lado, e considerando que os resultados obtidos são válidos para condições idênticas às experimentadas, nomeadamente a composição da mistura a compostar, a possibilidade de receção de subprodutos animais distintos dos atualmente processados na unidade de compostagem, ou idênticos mas em proporções superiores às atuais, poderá exigir novos testes para validação dos parâmetros de transformação (binómio temperatura/tempo), de forma a assegurar o grau de redução de patogenicidade exigido pela regulamentação aplicável. Outras possibilidades de estudo estarão relacionadas com o comportamento/erradicação de organismos patogénicos para diferentes intervalos de tempo/temperatura nos túneis de compostagem, tendo como pressupostos, não só assegurar a higienização do composto mas, também um grau de estabilidade e de maturação adequados às utilizações agrícolas pretendidas. Sendo os parâmetros humidade e caudal de ar/oxigénio monitorizados e controlados de forma permanente é exequível verificar a influência de tais fatores no grau de erradicação de agentes patogénicos, para um determinado binómio de tempo/temperatura.

## 7.4 CONCLUSÕES FINAIS

O trabalho desenvolvido possibilitou interligar a informação reunida durante a pesquisa bibliográfica, os requisitos regulamentares em vigor relativos ao tratamento de SPOA e a experimentação de uma metodologia com vista à validação de parâmetros de transformação alternativos numa unidade de compostagem de biorresíduos.

O risco de transmissão de microrganismos patogénicos para o ambiente e, em especial, para os solos agrícolas, através da utilização de compostos produzidos a partir de matérias contendo SPOA, pode ser mitigado mediante processos de inativação. Existem diversos parâmetros relevantes para a inativação ou sobrevivência microbiana, nomeadamente a humidade, disponibilidade de nutrientes (relação C:N), antagonismo microbiano e a temperatura. A opção, à escala industrial, dos parâmetros a controlar deve estar sustentada na facilidade e fiabilidade de monitorização, de forma a assegurar a higienização do processo de compostagem. Contudo, é importante ter presente que os restantes fatores poderão também influenciar o comportamento dos organismos e condicionar o resultado pretendido.

Da pesquisa realizada, as orientações para garantir a higienização do produto dependem fundamentalmente do binómio [tempo de exposição/temperatura]. A recomendação geral para a inativação térmica é uma temperatura superior a 50-55 °C, ainda que diversos organismos patogénicos possam ser facilmente inativados a temperaturas mais baixas e, outros, possam apresentar nenhuma redução ou até aumentar o número de elementos. O tipo de processo de compostagem (em leira/reator, sistema fechado/aberto, com/sem revolvimento) tem influência na definição do tempo de exposição necessário.

A componente experimental realizada possibilitou comprovar as vantagens de um processo de compostagem em reator fechado e controlado em contínuo (sistema multi-túnel), uma vez que situações de aparecimento de zonas com temperaturas distintas das adequadas a cada fase ou de focos de anaerobiose, são (potencialmente) anuladas, verificando-se assim, o critério de totalidade e simultaneidade, ou seja, condições idênticas em toda a massa de resíduos sujeita a compostagem.

No caso do processo de compostagem da CVO a erradicação dos organismos patogénicos, representados por *Ent. faecalis*, foi conseguida em 24 horas (tempo mínimo de exposição ensaiado) e para uma temperatura de 60 °C, durante a 1.<sup>a</sup> fase de compostagem, verificando-se uma redução superior a 7 ciclos logarítmicos, superior à exigida pelo Regulamento (CE) n.º 1069/2009. A existência de uma 2.<sup>a</sup> fase de compostagem, análoga à pré-compostagem, permitiu também comprovar a sua eficácia na higienização do produto, tendo sido demonstrada uma redução idêntica para o organismo indicador utilizado. O processo de compostagem, mediante os resultados obtidos nos ensaios de validação, mereceu a autorização por parte da entidade nacional competente, DGAV, para realizar o tratamento de SPOA nas condições em vigor na CVO.

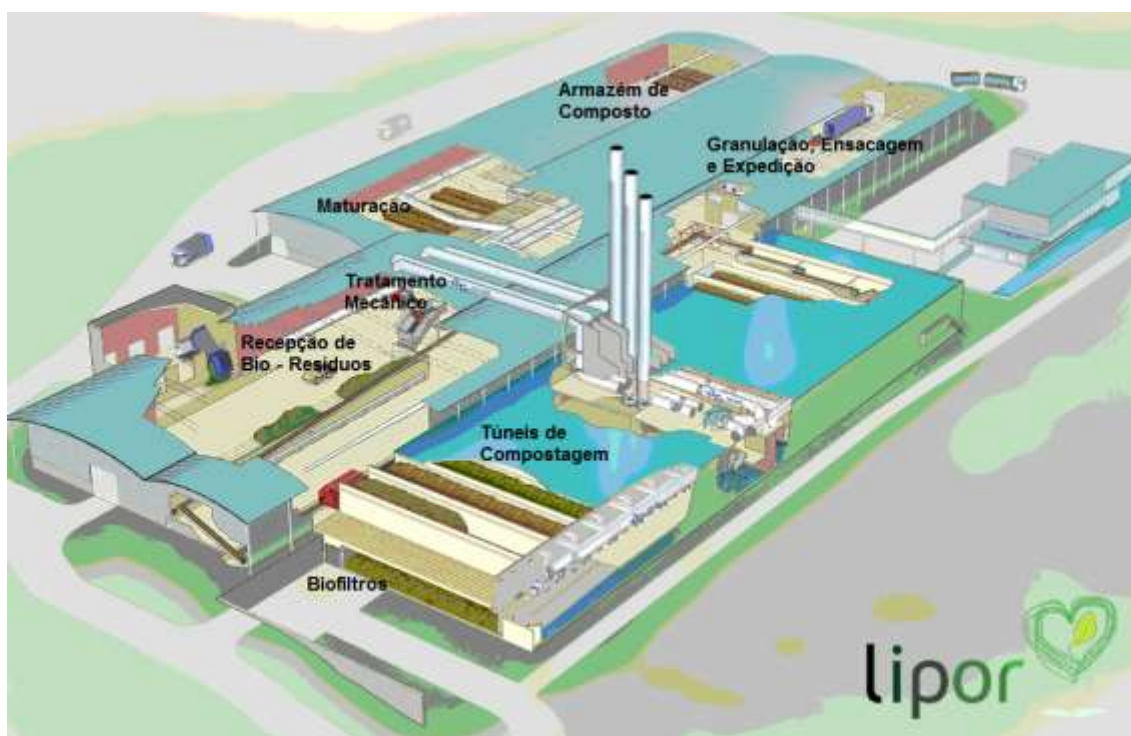
## APÊNDICES



## APÊNDICE I - CENTRAL DE VALORIZAÇÃO ORGÂNICA DA LIPOR

### ENQUADRAMENTO

A Central de Valorização Orgânica (CVO) encontra-se inserida no complexo da LIPOR em Baguim do Monte, Gondomar, dispõe de uma capacidade para tratar, anualmente, 60.000 toneladas de biorresíduos, sendo constituída pelos seguintes edifícios/áreas conforme representada na **Figura I.1**.



**Figura I.1** – Panorâmica geral da CVO (exterior e interior)

### Nave Fabril

A nave fabril corresponde ao edifício onde se realizam todas as atividades inerentes ao processamento dos resíduos rececionados e que irão ser sujeitos a compostagem. A área fabril, propriamente dita, inclui, genericamente, um pré-tratamento, a decomposição aeróbia da fração orgânica, a remoção de materiais indesejáveis ao processo (contaminantes) e o acondicionamento e preparação do produto final para comercialização. No interior da unidade encontra-se a área de receção de resíduos da CVO, onde são descarregados e armazenados temporariamente os resíduos orgânicos provenientes de vários circuitos de recolha seletiva, nomeadamente, setor da restauração e cantinas, híper, supermercados e mercados de hortícolas e frutícolas, empresas agroalimentares. A **Figura I.2** mostra as diferentes tipologias de biorresíduos rececionados.



**Figura I.2** – Exemplo de cargas rececionadas na CVO

A zona para onde são descarregados os resíduos apresenta um declive que favorece a recolha das águas percoladas através dos materiais, evitando, assim, a sua dispersão. As águas percoladas recolhidas são encaminhadas para o tanque de água do processo, sendo posteriormente reutilizadas no processo de compostagem.

Após a receção dos biorresíduos e verificação da qualidade do material de acordo com o procedimento de conformidade de descarga, dá-se início ao processo de tratamento por compostagem. Na primeira etapa, pré-tratamento, é feita uma triagem grosseira ao material recebido através de uma inspeção visual, efetuando posteriormente a mistura (**Figura I.3**) que irá ser alvo do processo de compostagem. A mistura a compostar é constituída por resíduos orgânicos, resíduos verdes previamente triturados e refugos do processo (material lenhoso) e, se necessário, material estruturante.



**Figura I.3** – zona de receção e preparação da mistura a compostar

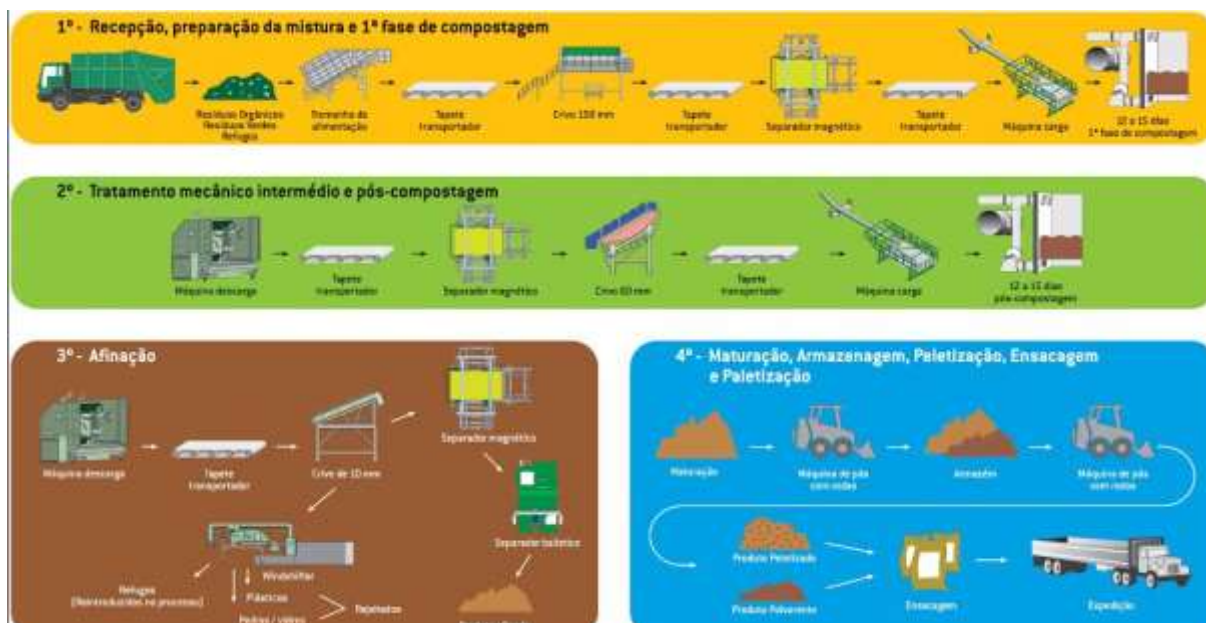
Em seguida os resíduos são encaminhados para a zona de tratamento mecânico primário onde são sujeitos a um processo de crivagem (*trommel*, malha 150 mm) e a uma primeira separação do material ferroso eventualmente presente. Após o tratamento mecânico primário a fração a compostar é descarregada, por meios mecânicos e automatizados, nos túneis da 1.<sup>a</sup> fase de compostagem.

Quando o túnel se encontra cheio (cerca de 220t a 270t), a porta é fechada e tem início o processo de compostagem. A 1.ª fase do processo de degradação biológica, em meio aeróbio, decorre durante 14 dias. No final desse período o túnel é esvaziado e o material semi-compostado é transportado (trasfegado) para a área de tratamento mecânico intermédio. O material resultante da 1.ª fase de compostagem é sujeito a um novo processo de crivagem (malha de 60 mm) e à separação de materiais ferrosos e inertes. O material resultante é designado por material intermédio sendo transportado para os túneis de 2.ª fase de compostagem. O processo, após o fecho da porta do respetivo túnel, desenrola-se de forma equivalente à descrita para a 1.ª fase de compostagem.

No final da 2.ª fase de compostagem procede-se ao esvaziamento dos túneis sendo o material conduzido, através de tapetes, à linha de tratamento mecânico final/afinação. Nesta área o material compostado passa por um último processo de crivagem (malha de 10 mm) e uma nova separação de materiais ferrosos e inertes, obtendo-se o produto afinado, o qual é enviado, por tapete, para a área de maturação. O produto afinado permanece na nave de maturação entre 3 a 6 semanas, sendo que tal área possui pavimento ventilado com arejamento controlado e monitorização de temperatura por sondas. No final do processo de maturação, o composto é transferido para a área de Armazenamento.

Quando o composto se encontra adequado para comercialização dá-se início ao processo de preparação e acondicionamento com vista à sua expedição. Esta fase pode incluir diversas operações, tais como granulação, acondicionamento em sacos ou *bigbags* e paletização.

O processo completo encontra-se apresentado de forma esquemática na **Figura I.4**.



**Figura I.4** – descrição das principais etapas operacionais da CVO

No piso -1 da instalação encontra-se o sistema de desodorização do ar recolhido nos diferentes espaços da CVO, o qual é constituído por 2 *scrubbers* (lavadores com água), um biofiltro segmentado em 18 secções, conforme **Figura I.5**, e uma zona de exaustão formada por 3 condutas. Existem ainda os sistemas de bombagem das águas do processo que ficam armazenadas nos tanques construídos para o efeito e localizados no piso -2.



**Figura I.5** – Biofiltro da CVO

A CVO dispõe ainda de uma área aberta, designada por Parque de Verdes conforme se apresenta na **Figura I.6**. Este espaço constitui uma segunda zona de receção de resíduos, sendo descarregados e armazenados temporariamente os resíduos verdes (relvas, podas, ramagens, troncos, raizeiros). Todos os resíduos rececionados são alvo de uma inspeção visual, procedendo-se a uma triagem manual de eventuais contaminantes (pedras, plásticos, etc.). Os resíduos verdes são posteriormente sujeitos a trituração (destroçamento) e transportados para o interior da CVO para serem incluídos na mistura a compostar.



**Figura I.6 – Parque de Verdes**

### **Caraterísticas dos resíduos**

A CVO recebe para tratamento unicamente as seguintes frações de biorresíduos:

- Resíduos Orgânicos provenientes, designadamente, do sector da restauração e similares, distribuição (feiras, mercados e super/hipermercados) e indústrias agroalimentares. Todos os resíduos são procedentes de circuitos de recolha seletiva. Genericamente os resíduos recolhidos consistem em restos de cozinha (preparação de refeições e mesa), frutas e legumes e produtos ou géneros alimentícios que não apresentam condições para consumo (prazo de validade expirado, defeitos de fabrico, p.ex.).
- Resíduos Verdes resultantes da exploração e manutenção de espaços verdes (jardins, parques, campos desportivos, relvados), aparas e serradura de madeiras não tratadas, resíduos verdes (flores e ramagens) procedentes de cemitérios, após triagem.

A receção de biorresíduos na CVO implica sempre a autorização prévia por parte da LIPOR após validação dos requisitos exigidos, ou seja, verificação do cumprimento integral dos critérios de admissibilidade, quer ao nível da tipologia dos materiais, quer ao nível do próprio processamento, evitando-se materiais que possam causar quaisquer tipo de constrangimentos operacionais ou na qualidade final do produto.

### **Preparação da mistura a compostar**

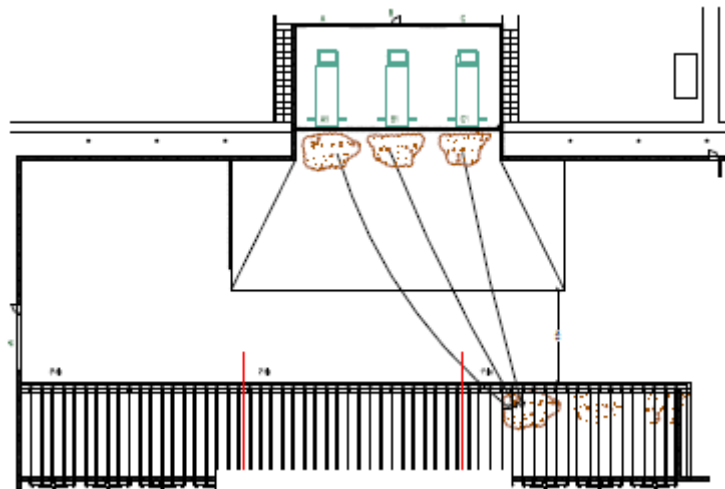
Na área de receção são movimentadas com recurso a uma pá carregadora, as quantidades de material orgânico, resíduos verdes e refugos do processo, necessárias para a constituição da mistura

a compostar, com vista a obter as características parametrizadas para o processo, as quais se encontram descritas na **Tabela I.1**.

**Tabela I.1** – Parâmetros para o material a compostar

Parâmetros	Material à entrada
Carbono total / Azoto total	22 - 35
Matéria orgânica (%)	50 - 80
Humidade (%)	50 - 60
pH	6 -8
Densidade (g/L)	< 650

A mistura fica temporariamente armazenada na zona de pavimento arejado até ser encaminhada para o tratamento mecânico primário e, de seguida e de forma totalmente automatizada, para a 1.<sup>a</sup> fase do tratamento biológico. A **Figura I.7** apresenta esquematicamente a zona de preparação da mistura inicial.



**Figura I.7** – Esquema da zona de receção e preparação da mistura

O aspeto final da mistura a compostar encontra-se registado na **Figura I.8**.



**Figura I.8** – mistura inicial localizada na zona de pavimento arejado.

### **Processo de compostagem em túnel**

Cada túnel é carregado de forma automática num único dia (tempo de enchimento cerca de 6 a 7 horas), sendo a mistura preparada com a antecedência necessária para garantir o enchimento do túnel de forma otimizada. Na **Figura I.9** apresenta-se o enchimento de um túnel. O material que é introduzido nos túneis passa previamente por uma balança que regista a quantidade total dos resíduos que irão ser sujeitos a compostagem. Com este sistema é possível controlar a massa de resíduos efetivamente colocada nos túneis, uma vez que a densidade da mistura a compostar varia de acordo com as características dos materiais rececionados.



**Figura I.9** – Sistema automático de enchimento dos tuneis.

Uma vez cheio o túnel procede-se ao fecho da porta e à introdução automática dos sensores de temperatura pelo tecto do túnel, seguindo a fase de nivelção de temperatura. Neste caso é insuflada uma elevada quantidade de ar para homogeneizar a temperatura de todo o material, permitindo que o processo se desenrole de forma mais uniforme. O tempo de nivelção e a duração desta etapa podem ser regulados em função da tipologia da mistura a compostar.

A **1.ª fase de compostagem** tem como objetivo, durante 14 dias, promover o desenvolvimento da degradação biológica em condições de aerobiose da matéria orgânica existente na mistura introduzida no túnel, garantindo-se as condições adequadas de humidade e temperatura para a proliferação dos microrganismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica. Nesta fase é necessário garantir a adição de água de forma a compensar as perdas por evaporação.

Para efeitos de autocontrolo é retirada uma amostra da mistura que irá ser sujeita a compostagem, determinando-se a humidade do material que entra no túnel de 1.ª fase. Desta forma, conhecido o teor de humidade à entrada é possível prever as necessidades de água para manter o teor de humidade dentro do intervalo predefinido. No final da 1.ª fase de compostagem procede-se à abertura do túnel para retirada da mistura, dando-se início ao procedimento de trasfega e à etapa de tratamento mecânico intermédio.

O material intermédio resultante da 1.ª fase de compostagem é sujeito a uma crivagem de 60 mm, sendo a fração de tamanho inferior encaminhada para a 2.ª fase de compostagem. A fração superior a 60 mm, designada por refugo grosso, é sujeita a uma triagem mecânica para retirada de materiais ferrosos e inertes. O material, após retirada dos contaminantes, é posteriormente reintroduzido no processo dado possuir ainda um elevado teor em matéria orgânica. Após o tratamento mecânico intermédio o produto volta a ser introduzido automaticamente nos túneis.

No final do enchimento do túnel, a porta é fechada e tem início a **2.ª fase de compostagem**, a qual se desenrola de forma idêntica ao descrito para a 1.ª fase de compostagem. Salienta-se contudo, que nesta fase não é utilizada água do processo para compensar a perda de água devida à evaporação, uma vez que podiam surgir focos de contaminação, recorrendo-se a água da rede pública.

No final da 2.ª fase de compostagem tem início o ciclo de esvaziamento e uma etapa final de tratamento mecânico e afinação. Nesta etapa, o produto é sujeito a uma crivagem de 10 mm sendo a fração inferior encaminhada para a área da maturação de forma automática com recurso a tapetes transportadores. A fração superior a 10 mm, designada por refugo fino, é sujeita a uma triagem mecânica para retirada de materiais ferrosos e inertes. O material, após retirada dos contaminantes é posteriormente reintroduzido no processo dado possuir um teor em matéria orgânica ainda expressivo.

Na área de **maturação** o produto é colocado em pavimento arejado, sendo insuflado ar de forma a manter a atividade dos microrganismos, de forma a garantir a estabilização e maturação do composto. A área de maturação encontra-se seccionada em 9 setores individuais, cada um possuindo uma válvula de ar independente e um sensor de temperatura. Neste estágio é fundamental proporcionar as necessárias condições de aerobiose, evitar a secagem do produto e eventuais situações de contaminação por agentes patogénicos. O produto final permanece cerca de 3 a 6

semanas, sendo posteriormente transferido para o armazém. A **Figura I.10** mostra a nave dedicada à maturação do produto final.



**Figura I.10** – Nave de maturação

A zona de armazenamento é um recinto fechado com capacidade para acondicionar cerca de 5000 toneladas de composto. Caso os resultados analíticos evidenciem a boa qualidade do composto, o produto fica aprovado para comercialização e expedição, podendo ser vendido a granel ou embalado, na forma pulverulenta ou granulada. A **Figura I.11** mostra o armazenamento do composto, disposto por lotes/medas.



**Figura I.11** – Armazenamento do composto

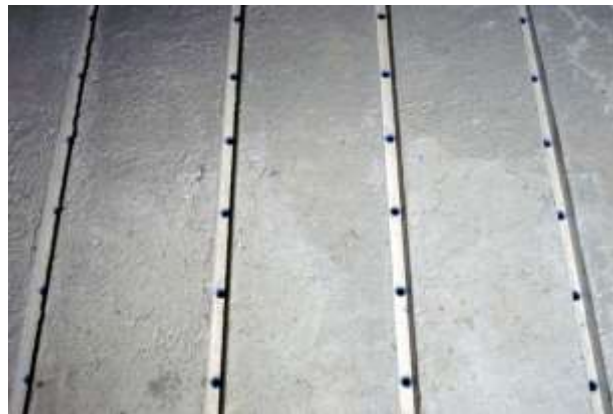
### **Descrição dos túneis de compostagem**

De acordo com a tecnologia adotada na CVO, o tratamento biológico da mistura de biorresíduos desenvolve-se integralmente em sistema multi-túnel. A característica principal desta tecnologia consiste no facto do arejamento inferior ser promovido através de um pavimento onde estão instaladas redes de tubagens paralelas, sendo que o ar é expelido através de cânulas cónicas designadas por “*spigots*”. As tubagens e os “*spigots*” encontram-se no interior do pavimento. A

ventilação forçada é assim realizada por insuflação. As **Figuras I.12 e I.13** mostram o sistema de insuflação dos túneis.



**Figura I.12** – Colocação do sistema de arejamento (tubagem e *spigots*) nos túneis, fase de construção.



**Figura I.13** – Sistema de arejamento inferior do túnel (pavimento com insuflação)

Devido ao sistema adotado é possível fazer circular o ar sobre o material no interior do túnel e fornecer uma quantidade igual de ar fresco em relação ao ar extraído (oriundo do processo de compostagem), ou mesmo reintroduzir o próprio ar extraído, garantindo uma distribuição uniforme de ar, em quantidades otimizadas e, conseqüentemente, anulando eventuais focos de anaerobiose. O sistema multi-túnel proporciona as condições necessárias para o desenvolvimento de um processo de compostagem acelerada em condições que garantem a higienização do produto. O sistema opera no sentido de alcançar os valores predefinidos para os parâmetros críticos para o desenvolvimento do processo, nomeadamente a temperatura, teor de humidade e o nível de oxigénio/ar.

A área de tratamento biológico da CVO é constituída por duas alas idênticas, compostas por 9 túneis cada. Entre a 1.<sup>a</sup> fase de compostagem e a 2.<sup>a</sup> fase verifica-se uma significativa redução do volume (e de massa) do material sujeito a compostagem, fazendo com que, habitualmente, dois túneis da 1.<sup>a</sup>

fase constituam um túnel de 2.<sup>a</sup> fase de compostagem. As principais características de cada túnel de compostagem encontram-se apresentadas na **Tabela I.2**.

**Tabela I.2** – Principais características dos túneis de compostagem

<b>Área da base do túnel</b>	210 m <sup>2</sup>
<b>Dimensões interiores (cxlxh)</b>	35mx6mx5m
<b>Capacidade máxima do túnel</b>	220t – 270t
<b>Arejamento máximo do túnel</b>	100m <sup>3</sup> /(m <sup>2</sup> .h)

Cada túnel constitui uma unidade autónoma, dispondo de um sistema independente de ventilação e controlo. Em todos os túneis existe igualmente um sistema de drenagem dos efluentes, resultantes da decomposição dos resíduos orgânicos, bem como um “*sistema de rega*”, o qual possibilita a adição de água através de um conjunto de aspersores por forma a compensar parte da água que é evaporada, assegurando os teores de humidade adequados para o desenrolar do processo de compostagem. A quantidade de água que é necessária acrescentar em cada momento para manter a humidade no valor desejado é calculada com base nos teores de evaporação que se verificam durante o processo de compostagem e no teor de humidade da mistura inicial (processo automático). Sendo o processo de compostagem deficitário em água, além da utilização das águas do processo (cuja utilização se resume somente à 1.<sup>a</sup> fase de compostagem), recorre-se à adição de água proveniente da rede pública, furos e das chuvas, uma vez que a instalação dispõe de um sistema de aproveitamento da água das chuvas na sua cobertura.

### **Controlo do Processo de Compostagem**

O controlo do processo que se desenrola no interior dos túneis é efetuado através do *software* da GICOM (entidade detentora da tecnologia e responsável pelo projeto de conceção e fornecimento para as componentes de compostagem (processo biológico), ventilação e tratamento do ar), controlado e visualizado a partir da sala de comando e controlo conforme se apresenta na **Figura I.14**.



**Figura I.14** – Sala de comando e controlo da CVO

Durante o processo de compostagem que decorre nos túneis vão sendo automaticamente controlados os seguintes parâmetros:

- temperatura do ar
- humidade do ar
- concentração de oxigénio
- pressão
- volume de ar
- temperatura da massa de resíduos

O sistema atua de forma a manter o material a compostar a uma determinada temperatura previamente fixada. Para tal, é utilizado o ventilador respetivo, variando a quantidade de ar que se insufla no túnel. Se a temperatura do material está acima da prefixada, o programa ordena insuflar um caudal de ar maior de forma a arrefecer o material, sendo que, nesta situação, o ventilador trabalha num regime mais elevado. Na situação oposta (temperatura do material abaixo da prefixada), o programa assume que se está a insuflar demasiado ar e manda reduzir essa quantidade. Esta diminuição consegue-se restringindo o regime de atividade do ventilador.

O sistema informático de controlo monitoriza em contínuo os parâmetros predefinidos, estando programado para controlar determinadas variáveis em certos momentos predeterminados ou pontos ao longo do túnel. A partir do momento em que se encerram as portas dos túneis inicia-se o controlo automático do processo, podendo promover-se automaticamente a insuflação e sucção de ar:

- o ar é insuflado em quantidade variável na massa de resíduos pelos “*spigots*” existentes no pavimento do túnel;
- o ar é extraído pela parte superior mantendo uma corrente de ar fresco e, desta forma, a temperatura da massa de resíduos e a quantidade de oxigénio em níveis desejáveis.

O ar extraído dos túneis passa por um sistema de limpeza e lavagem e posteriormente pelo biofiltro, antes de ser enviado para as condutas de extração existentes e ser expelido para a atmosfera.

Tal como referido anteriormente, o sistema multi-túnel desenrola-se em duas fases (1.<sup>a</sup> fase de compostagem e 2.<sup>a</sup> fase de compostagem), cada uma possuindo as etapas descritas seguidamente:

1.<sup>a</sup> etapa – Arranque/Aquecimento: carregado e fechado o túnel, o processo de aclimação tem início. O sistema de ventilação entra em operação provocando a introdução de ar através do sistema de arejamento existente no pavimento dos túneis, sendo monitorizada a temperatura da massa de resíduos, até atingir a temperatura predefinida para a 2.<sup>a</sup> etapa do processo biológico;

2.<sup>a</sup> etapa – Pasteurização/Higienização: uma vez atingida a temperatura definida para a higienização, inicia-se esta etapa, na qual a temperatura é mantida durante um determinado período de tempo, tendo este binómio sido projetado e parametrizado pela GICOM e tendo por base a tipologia de biorresíduos a tratar e qualidade final pretendida para o composto. No caso da CVO o binómio temperatura/tempo é 60°C durante 48 horas ininterruptas. Nesta etapa ocorre a higienização térmica da mistura de resíduos a compostar, a fim de proporcionar a necessária redução de agentes patogénicos. Durante a fase de decomposição intensiva, o sistema informático assegura as condições ideais para apoiar o processo biodegradativo.

3.<sup>a</sup> etapa – Arrefecimento: nesta etapa verifica-se o decréscimo da temperatura estabelecida na etapa anterior (Pasteurização/Higienização) para a temperatura predefinida para a etapa seguinte.

4.<sup>a</sup> etapa – Condicionamento: nesta etapa o material mantém-se a 50°C durante um determinado período de tempo, genericamente, 7 a 8 dias.

5.<sup>a</sup> etapa – Arrefecimento: nesta etapa verifica-se o decréscimo da temperatura estabelecida na etapa anterior para uma temperatura adequada ao esvaziamento do túnel.

O sistema informático monitoriza o processo, aferindo os parâmetros sujeitos a controlo para que, em qualquer uma das etapas anteriormente descritas, os mesmos se aproximem dos valores de referência designados, ou seja, o caudal de fluídos (ar, água) a ser introduzido está dependente da evolução do processo de compostagem no respetivo túnel.

A evolução dos valores registados nos sensores (4 sondas/túnel) fica armazenada numa tabela que fixa os valores a cada 15 minutos. Esta base de dados permite ao *software* construir gráficos com os parâmetros mais significativos e que permitam interpretar a evolução do processo de compostagem. Os gráficos são armazenados e podem ser consultados em qualquer momento, assim como a lista de valores associados aos mesmos.

## **Monitorização**

Tendo como objetivo garantir a qualidade do composto e o respeito pelas normas e boas práticas ambientais e de segurança foi desenvolvido um Plano de Monitorização para a CVO. Tal plano permitiu criar um conjunto de sinergias sistemáticas entre os processos de planeamento, processos de execução, processos de análise e de beneficiação e processos de suporte à atividade, para que a melhoria contínua seja uma prática sustentada e assimilada. De modo a assegurar a correta avaliação dos parâmetros do material ao longo do processo de tratamento, foram identificados os diferentes pontos de amostragem a monitorizar. Em cada ciclo de enchimento é recolhida uma amostra para análise, conforme definido no Plano de Monitorização. As amostras são analisadas mediante dois critérios:

- autocontrolo do processo: neste caso as determinações analíticas aos parâmetros fixados são realizadas no laboratório interno da CVO. O autocontrolo pretende garantir o acompanhamento e evolução de cada processo de compostagem;
- controlo do produto final: as análises são efetuadas em laboratório externo. O composto é alvo de análises em laboratórios externos, utilizando-se métodos de referência, aceites e reconhecidos, com vista a evidenciar a qualidade do composto produzido e o cumprimento dos limites definidos para os diferentes parâmetros predefinidos.

## APÊNDICE II - CONJUNTO DE DADOS DE SUPORTE AO PROCESSO DE VALIDAÇÃO

### DADOS DO PROCESSO – CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

Resumidamente apresentam-se os principais dados relacionados com o trabalho desenvolvido, no que diz respeito à receção das matérias-primas na CVO, composição dos túneis e valores obtidos para os parâmetros de controlo interno do processo.

#### Funcionamento da semana 09

##### Resíduos recebidos

Durante a semana 09 foram recebidas na CVO 867,660 toneladas de resíduos, conforme quadro abaixo:

Semana 09	Dia	Verdes	Orgânicos	Nº de cargas
2ª	23/fev	129 980	98 580	32
3ª	24/fev	77 200	87 720	29
4ª	25/fev	56 380	94 240	26
5ª	26/fev	55 940	78 840	24
6ª	27/fev	54 480	90 560	26
Sáb	28/fev	0	38 180	12
Dom	01/mar	0	5 560	3
Total		373 980	493 680	152
		867 660		

(valores em quilogramas)

Relativamente à composição inicial dos túneis alvo de amostragem, as quantidades por fluxo encontram-se detalhadas nas secções destacadas, valores em quilograma.

Os processos referentes aos enchimentos realizados nos dias 10 e 12 de fevereiro, após trasfega, resultarem no túnel de pós-compostagem n.º 3, e que foi alvo do procedimento experimental.

Semana	Movimento	Data	Processo	Orgânicos	Verdes	Refugos	Mat. Crivado	Total pesado
	Enchimento	09/02/2015	14.218/15	118,30	105,60	97,70	0,00	321,6
		10/02/2015	8.251/15	86,18	80,48	64,60	0,00	231,3
		11/02/2015	12.205/15	81,68	81,48	68,00	0,00	231,2
		12/02/2015	13.200/15	72,92	79,16	71,20	0,00	223,3
		13/02/2015	9.252/15	92,44	77,84	67,50	22,00	259,8

O enchimento realizado no dia 22 de fevereiro refere-se ao túnel n.º 15, pré-compostagem. Apesar da quantidade total ser de 306,5 toneladas, a densidade do material foi, aproximadamente, 500 kg.m<sup>-3</sup>, cumprindo as características definidas pelo tecnólogo para a mistura inicial.

Semana	Movimento	Data	Processo	Orgânicos	Verdes	Refugos	Mat. Crivado	Total pesado
	Enchimento	16/02/2015	18.167/15	112,08	104,88	74,70	15,40	307,0
		17/02/2015	16.221/15	104,44	82,60	60,00	0,00	247,0
		18/02/2015	11.208/15	44,08	87,92	64,90	0,00	196,9
		19/02/2015	10.174/15	74,63	86,02	70,60	0,00	231,3
		<del>20/02/2015</del>	<del>7.258/15</del>	<del>88,21</del>	<del>88,34</del>	<del>62,20</del>	<del>0,00</del>	<del>252,8</del>
		22/02/2015	15.221/15	110,52	94,36	101,60	0,00	306,5

Os enchimentos relativos aos dias 23 e 24 de fevereiro referem-se, respetivamente, aos túneis n.º 8 e n.º 12, ambos processos de pré-compostagem.

Semana	Movimento	Data	Processo	Orgânicos	Verdes	Refugos	Mat. Crivado	Total pesado
	Enchimento	23/02/2015	8.252/15	92,93	72,80	74,60	0,00	240,3
		24/02/2015	12.206/15	84,75	72,52	87,10	0,00	244,4
		25/02/2015	14.219/15	94,81	73,14	79,30	0,00	247,3
		27/02/2015	13.201/15	99,85	72,72	77,00	0,00	249,6

Seguidamente apresentam-se os valores obtidos para os vários parâmetros de referência do processo, analisados internamente, quer para as misturas iniciais (túneis de pré-compostagem), assim como para o material introduzido no túnel de pós-compostagem.

Processo Enchimento	Processo analisado	C (%)	C/N	MO (%)	Azoto (%)	Hum. (%)	pH	Cond. (mS/cm)	Densidade (g/l)
8.251/15 10-Fev	<b>3.249/15</b> <b>23-Fev</b> <b>(pós-comp.)</b>	43,48%	29,18	78,27%	1,49%	59,78%	5,84	2,72	518,90
12.205/15 11-Fev		43,85%	29,43	78,93%	1,49%	55,92%	5,62	2,41	500,80

Processo Enchimento	Processo analisado	C (%)	C/N	MO (%)	Azoto (%)	Hum. (%)	pH	Cond. (mS/cm)	Densidade (g/l)
15.221/15 22-Fev	<b>15.221/15 22-Fev (pré-comp.)</b>	44,76%	29,84	80,56%	1,50%	58,67%	5,63	2,37	509,20

Processo Enchimento	Processo analisado	C (%)	C/N	MO (%)	Azoto (%)	Hum. (%)	pH	Cond. (mS/cm)	Densidade (g/l)
8.252/15 23-Fev	<b>8.252/15 23-Fev (pré-comp.)</b>	43,65%	29,69	78,57%	1,47%	59,03%	5,96	3,02	597,00

Processo Enchimento	Processo analisado	C (%)	C/N	MO (%)	Azoto (%)	Hum. (%)	pH	Cond. (mS/cm)	Densidade (g/l)
12.206/15 24-Fev	<b>12.206/15 24-Fev (pré-comp.)</b>	38,99%	25,00	70,19%	1,56%	58,62%	5,82	2,89	508,80

Da análise dos valores obtidos para os parâmetros de referência verifica-se que os mesmos estão de acordo com o definido pelo tecnólogo, nomeadamente no que se refere à relação C.N, teor de humidade, teor de matéria orgânica e densidade, possibilitando assim, que o processo de compostagem se desenrolasse de forma adequada nos túneis ensaiados.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amlinger, F., Barth, J. 2010. Comments on SANCO/7066/2010 ABPR (EC) No.1069/2009. European Compost Network ECN e.V, Weimar, Germany, 13pp.

Beffa, T. 2002. The composting biotechnology: a microbial aerobic solid substrate fermentation complex process. *The composting process and management*. Compag Technologies International. pp: 1-37.

Beffa, T., Blanc, M., Marilley, L., Lott Fischer, J., Lyon, P-F., Aragno, M. 1995. Taxonomic and metabolic microbial diversity during composting. *The Science of Composting*. Eds: de Bertoldi, M., Sequi, P., Lemmes, B., Pappi, T. Blackies Academic and Professional, Glasgow, Scotland, **Vol. 1**: 149-161.

Bijlsma, P.B, Wit, D.H., Duindam, J.W., Elsinga, G.J., Elsinga, W. 2013. Spot test analysis of microbial contents during composting of kitchen and garden biowaste: sampling procedures, bacterial reductions, time-temperature relationships, and their relevance for EU-regulations concerning animal by-products. *Journal of Environmental Management* **115**: 198-205.

Ceustermans, A., De Clercq, D., Aertsen, A., Michiels, C., Coosemans, J., Ryckeboer, J. 2007. Inactivation of *Salmonella* Senftenberg strain W 775 during composting of biowastes and garden wastes. *Journal of Applied Microbiology* **103**: 53–64.

Christensen, K.K., Carlsbaek, M., Kron, E. 2002. Strategies for evaluating the sanitary quality of composting. *Journal of Applied Microbiology* **92**: 1143-1158.

COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE COUNCIL AND THE EUROPEAN PARLIAMENT COM(2010)235 final. 2010. On future steps in bio-waste management in the European Union. SEC(2010) 577. European Commission, Brussels, 11pp.

De Bertoldi, M., Zucconi, F., Civilini, M. 1988. Temperature pathogen control and product quality. *Biocycle February*, pp: 43-50.

De Clercq, D., Ceustermans, A., Heyndrickx, M., Coosemans, J., Ryckeboer, J. 2007. A rapid monitoring assay for the detection of *Salmonella* spp. and *Salmonella* Senftenberg strain W775 in composts. *Journal of Applied Microbiology* **103**: 2102-2112.

DEFRA. 2011. Controls on Animal By-Products. Guidance on Regulation (EC) 1069/2009 and accompanying implementing Regulation (EC) 142/2011, enforced in England by the Animal By-

Products (Enforcement) (England) Regulations 2011. Version 4. The National Archives, Kew, London, 26pp.

European Compost Network ECN e.V. 2013. Good Practice Guide – How to comply with the EU Animal By-Products regulations at composting and anaerobic digestion plants. European Compost Network ECN e.V, Bochum, Germany. 43pp.

Elving, J. 2009. Pathogen inactivation and regrowth in organic waste during biological treatment. SLU Service/Repro, 57 pp. Available from: Uppsala Swedish University of Agricultural Sciences. ISBN 978-91-86197-56-8.

Elving, J. 2012. Thermal treatment of organic waste and its function as a controlled risk mitigation strategy [Ph.D. dissertation]. SLU Service/Repro, 88 pp. Available from: Uppsala Swedish University of Agricultural Sciences. ISBN 978-91-576-7749-5

Emmoth, E. 2010. Virus Inactivation - Evaluation of processes used in biowaste management [Licentiate Thesis]. SLU Service/Repro, 65pp. Available from: Uppsala Swedish University of Agricultural Sciences. ISBN 978-91-576-9001-2

EUROSTAT. 2013. Municipal waste statistics Disponível: [http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Municipal\\_waste\\_statistics](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Municipal_waste_statistics). [data da consulta: 08/06/15].

Gale, P. 2002. Risk Assessment: Use of Composting and Biogas Treatment to Dispose of Catering Waste Containing Meat. Final Report to the Department for Environment, Food and Rural Affairs. DEFRA, Marlow, Buckinghamshire, 182pp.

Gomes, A.P. 2001. Fundamentos da compostagem de resíduos sólidos [Ph.D. dissertation]. 230pp. Universidade de Aveiro.

Gotaas, H.B. 1956. Composting sanitary disposal and reclamation of organic wastes. World Health Organization. Monograph Series No 31.

Government of Canada. 2013. Technical document on municipal solid waste organics processing. ISBN 978-1-100-21707-9.

Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Sobsey, M. 2003. Occurrence and survival of viruses in composted human faeces. *Sustainable Urban Renewal and Wastewater Treatment* No. 32: 1-58.

Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, M., Boudadou, A. 2002. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management*, Tunis, EPCOWM, pp.357-368.

Hogg, D., Favoino, E., Nielsen, N., Thompson, J., Wood, K., Alexandra Penschke, A., Economides, D., Papageorgiou, S. 2002. *Economic Analysis of Options for Managing Biodegradable Municipal Waste . Final Report. Eunomia Research & Consulting*, UK, 190pp.

Hultman, J. 2009. Microbial diversity in the municipal composting process and development of detection methods. Academic Dissertation in Environmental Ecology. Printed by Yliopistopaino. 38pp. Helsinki Faculty of Biosciences of the University of Helsinki. ISBN 978-952-10-5183-8.

Jones, P., Martin, M. 2003. A Review of the literature on the occurrence and survival of pathogens of animals and humans in green compost. The Waste and Resources Action Programme, WRAP, UK, 33pp.

Ligocka, A., Paluszak, Z. 2007. Validation of meat by-products composting process on the basis of the inactivation of selected microorganisms and parasite eggs. *Proceedings of International Symposium ISAH-2007 Tartu, Estonia*. pp: 966-973. Polish State Committee for Scientific Research, grant No. 1052/P06/2005.

Ligocka, A., Paluszak, Z. 2008. Evaluation of meat waste composting process based on fecal streptococci survival. *Polish J. of Environ. Stud.* **17 (5)**: 739-744.

MAOT. 2014. Portaria n.º 187-A/2014 que aprova o Plano estratégico para os Resíduos Urbanos (PERSU 2020), para Portugal Continental. Diário da República, I Série, n.º 179.

Monteith, H.D., Shannon, E.E., Derbyshire, J.B. 1986. The inactivation of a bovine enterovirus and a bovine parvovirus in cattle manure by anaerobic digestion, heat treatment, gamma irradiation, ensilage and composting. *Journal of Hygiene* **97**: 175-184.

Nakasaki, K., Sasaki, M., Shoda, M., Kubota, H. 1985. Characteristics of mesophilic bacteria isolated during thermophilic composting of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology* **49 (1)**: 42-45.

NTA 8777:2011. NEN. Validation of processes in facilities transforming manure and/or other animal by-products into biogas or compost. Method including material spiked with *Enterococcus faecalis*. NN-instituut. Netherlands.

Paluszak, Z., Bauza-Kaszewska, J., Skowron, K. 2011. Effect of animal by-products composting process on the inactivation of indicator bacteria. *Bull Vet Inst Pulawy* **55**: 45-49.

Partanen, P., Hultman, J., Paulin, L., Auvinen, P., Romantschuk, M. 2010. Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiology*, **10**:94.

REGULAMENTO (CE) n.º 1069/2009 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 21 de Outubro de 2009 que define regras sanitárias relativas a subprodutos animais e produtos derivados não destinados ao consumo humano e que revoga o Regulamento (CE) n.º 1774/2002.

REGULAMENTO (UE) N.º 142/2011 DA COMISSÃO de 25 de Fevereiro de 2011 que aplica o Regulamento (CE) n.º 1069/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho que define regras sanitárias relativas a subprodutos animais e produtos derivados não destinados ao consumo humano e que aplica a Diretiva 97/78/CE do Conselho no que se refere a certas amostras e certos artigos isentos de controlos veterinários nas fronteiras ao abrigo da referida diretiva.

REGULAMENTO (UE) 2015/9 DA COMISSÃO de 6 de janeiro de 2015 que altera o Regulamento (UE) n.º 142/2011 que aplica o Regulamento (CE) n.º 1069/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho que define regras sanitárias relativas a subprodutos animais e produtos derivados não destinados ao consumo humano e que aplica a Diretiva 97/78/CE do Conselho no que se refere a certas amostras e certos artigos isentos de controlos veterinários nas fronteiras ao abrigo da referida diretiva.

Russo, M. 2003. Tratamento de resíduos sólidos. Universidade de Coimbra, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Departamento de Engenharia Civil. pp: 52-80.

Ryckeboer, J., Margaret, J., Vaes, K., Klammer, S., De Clercq, D., Coosemans, J., Insam, H., Swings, J. 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology* **53 (4)**: 399-410.

Sandals, D., Povey, C., Meek, A. 1995. Prevalence of Bovine Parvovirus infection in Ontario dairy cattle. *Can. J. Vet. Res.* **59**: 81-86.

Schuchardt, F. 2005. Composting of Organic Waste Environmental Biotechnology. In: Concepts and Applications. Edited by H.-J. Jördening and J. Winter WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. pp 333-354.

Sidhu, J., Gibbs, R.A., Ho, G.E. and Unkovich, I. 2001. The role of indigenous microorganisms in suppression of salmonella regrowth in composted biosolids. *Water Research*, **35(4)**, 913-920.

Simpson, A. A., Hérbert, B., Sullivan, G. M., Parnish, C. R., Zádori, Z., Tijssen, P., Rossmann, M. G. 2002. The structure of porcine parvovirus: comparison with related viruses. *Journal of Molecular Biology* **315**: 1189-1198.

Singh, R. 2011, Thermal inactivation of stress adapted pathogens in compost. Tiger Prints, 205pp. Available from: Clemson University, Paper 873.

Singh, R., Kim, J., Shepherd, M. W., Luo, F., Jiang, X. 2011. Determining thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh compost by simulating early phases of the composting process. *Applied and Environmental Microbiology* **77 (12)**, pp: 4126-4135.

Soares, H. M., Cárdenas, B., Weir, D., Switzenbaum, M. 1995. Evaluating pathogen regrowth in biosolids compost. *BIOCYCLE*, 70-76.

Sunar, N. M., Stentiford, E.I., Stewart, D.I, Fletcher, L.A. 2010. Survival of *Salmonella* spp. in composting using vial and direct inoculums technique. *Proceeding of ORBIT 2010 International Conference of Organic Resources in the Carbon Economy*. Crete, Greece. pp: 886-892 ISBN 978-960-6865-28-2.

Sunar, N. M., Stentiford, E.I., Stewart, D.I, Fletcher, L.A. 2009. The Process and Pathogen Behaviour in Composting: A Review. *Proceeding UMT-MSD 2009 Post Graduate Seminar*. Universiti Malaysia Terengganu, Malaysian Student Department UK & Institute for Transport Studies University of Leeds. pp: 78-87, ISBN: 978-967-5366-04-8.

Zaleski, K., Josephson, K., Gerba, C., Pepper, I. 2005. Potential regrowth and recolonization of salmonellae and indicators in biosolids and biosolid-amended soil. *Applied and Environmental Microbiology* **71 (7)**: 3701–3708.

Wichuk, K.M., McCartney, D. 2007. A review of the effectiveness of current time–temperature regulations on pathogen inactivation during composting. *Journal of Environmental Engineering and Science* **6**: 573–586.

Wilkinson, K.G., 2007. The biosecurity of on-farm mortality composting. *Journal of Applied Microbiology* **102**: 609–618.