

II SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA
SANITÁRIA E AMBIENTAL
Salvador/Bahia/Brasil
26 a 29 de Agosto de 1986

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA
MICROBIANA A PARTIR DE EFLUENTES DE PRODUÇÃO DE BOVINOS

Benilde Simões Mendes
Fernando José Pires Santana
José Filipe dos Santos Oliveira

6 - Tratamento de Resíduos Industriais

Departamento de Ciências e Engenharias do Ambiente
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Universidade Nova de Lisboa

Qta da Torre 2825 Mte da Caparica - PORTUGAL

RESUMO

A produção de biomassa microbiana a partir dos efluentes gerados na criação de bovinos, faz parte das técnicas possíveis de "refeeding". Complementando trabalhos já realizados no DCEA apresenta-se um estudo sobre a influência da temperatura na produção daquela, do ponto de vista quantitativo e qualitativo. A análise detalhada da biomassa inclui os respectivos aminogramas, teor em ácidos nucleicos, composição bruta de acordo com o esquema de Weende e estimativa do valor nutricional.

1. Introdução

A criação animal constitui em Portugal uma das fontes de poluição ambiental mais importantes. De acordo com GASPAR et al. (1980) o total das cargas poluentes geradas no País atingiriam o equivalente a cerca de 45 milhões de habitantes, assim distribuídos:

Poluição doméstica	9,3x10 ⁶ hab.-equiv.
Poluição industrial	20,8x10 ⁶ hab.-equiv.
Poluição por criação animal	14,9x10 ⁶ hab.-equiv.
Bovinos	8,9x10 ⁶ hab.-equiv.
Porcinos	6,0x10 ⁶ hab.-equiv.
	<hr/>
TOTAL	45,0x10 ⁶ hab.equiv.

A criação de bovinos, objecto deste trabalho, equivaleria pois a 19,7% da poluição total gerada em Portugal.

A carga poluente representada pelos excretos de bovinos caracteriza-se pelo elevado quantitativo de matéria orgânica veiculada por eles. A biodegradabilidade desses efluentes é variável com o tipo de gado considerado (engorda ou leiteiro, fundamentalmente), com a raça, estado e idade dos animais, tipo de alimentação fornecida, modo de criação e de estabulação, etc. De qualquer modo é relativamente alta, embora tendencialmente menor no caso do gado leiteiro do que de engorda.

A evolução dos materiais presentes ao longo de um processo biodegradativo em aerobiose segue a evolução usual em efluentes deste tipo (OLIVEIRA et al, 1985, OLIVEIRA et al 1986).

Se a esta biodegradabilidade adicionar-mos a presença de quantitativos elevados de Azoto e de outros nutrientes encontraremos algumas das razões que justificam a reutilização destas á-

guas residuais que tem vindo a ser posta em prática, com relativo sucesso, em algumas regiões.

Uma das razões possíveis compreendidas nas técnicas gerais de reutilização dos efluentes de criação animal, com elevados teores de matéria orgânica e altas cargas orgânicas, é a alimentação da mesma ou de outras espécies animais ("refeeding" na terminologia anglo-saxónica).

Considerando a composição química dos excreta com a constituição usual das forragens e de outros alimentos para o gado, verifica-se que eles se podem classificar entre as forragens (MARTIN et al, 1983). De acordo com aqueles critérios alimentares desse tipo poderão mesmo ser classificados e usados como alimentos proteicos desde que o respectivo teor em proteínas ultrapasse 20%.

Nesse sentido se justificam as técnicas de valorização por multiplicação microbiana, recorrendo à microflora própria ou a estirpes ou populações seleccionadas para o efeito. Essas técnicas tendentes à produção de biomassa suplementar podem recorrer apenas aos nutrientes intrínsecos dos excreta ou suplementá-los com outros, usualmente Azoto e/ou Fósforo.

Em trabalho anterior em vias de publicação (OLIVEIRA et al 1986 b) apresentaram-se os resultados obtidos por suplementações diversas de Azoto e Fósforo à semelhança de resultados análogos já obtidos com efluentes de Suínos (OLIVEIRA et al, 1983). Verificou-se nesses ensaios a vantagem de uma suplementação fosforo azotada. Concretamente a adição de N e de P à razão de 1g de cada um destes elementos por litro de efluente bruto permitiu aumentar em 11% o peso de biomassa obtida. Além disso a qualidade da biomassa melhorou substancialmente ultrapassando o limite de 20% aceite como mínimo para os alimentos ditos proteicos.

À semelhança do efectuado sobre os efluentes de porcos, também no caso dos efluentes de Bovinos se decidiu comprovar a in

fluência da temperatura, fazendo-a variar entre 20 e 40°C, na presença de nutrientes e sem qualquer suplementação mineral. Designaremos as modalidades suplementares por N_1P_1 , de acordo com a terminologia anterior (OLIVEIRA et al, 1986 b) e as modalidades sem adição de nutrientes por Testemunha.

O objectivo essencial do ponto de vista analítico foi a definição possível da qualidade de biomassa obtida, nomeadamente das fracções azotadas.

2. Material e métodos

Os efluentes de bovinos leiteiros utilizados nos ensaios descritos, colhidos numa exploração de 20 vacas leiteiras no Mte da Caparica (Almadã), apresentam a composição a composição média que se resume no Quadro 1.

A produção de biomassa foi efectuada recorrendo a frascos de Erlenmeyer de 1 Litro de capacidade, continuamente agitados recorrendo a uma barra magnética e introduzidos num banho termotatizado à temperatura indicada no protocolo.

A evolução do crescimento microbiano era seguido através da determinação da absorvância da luz ($\lambda=600$ nm), efectuada a intervalos regulares até às 66 horas, período médio necessário para se atingir máxima densidade. Os valores obtidos ao longo do controlo efectuados são resumidos no Quadro 2.

Uma vez atingido o estudo de crescimento máximo procedeu-se à determinação do pH e condutividade. A biomassa foi separada por centrifugação a 2000 x g durante 10 minutos.

O material foi seco a 80°C numa estufa de vácuo, sendo seguidamente moído e conservado em excicadores para maior estabilidade do produto final.

As determinações analíticas efectuadas sobre o efluente

bruto, na biomassa seca e moída e no sobrenadante obtido aquando da separação da fase sólida, foram efectuadas de acordo com a metodologia referida em trabalhos anteriores (OLIVEIRA et al, 1983, 1985 a,b,c). As determinações de amino ácidos foram efectuadas sobre o hidrolizado ácido obtido, tratando a amostra com uma solução concentrada de HCl_7N e neutralizando a solução obtida com uma solução concentrada de $NaOH$. A solução hidrolisada foi centrifugada antes da injeção no aparelho utilizado (modelo Alpha da LKB Biochrom).

3. Apresentação e discussão dos resultados experimentais

Apresentou-se no Quadro 1 a composição média dos efluentes brutos de bovinos leiteiros utilizados nos nossos ensaios de produção de biomassa.

Os parâmetros controlados ao longo do período de multiplicação microbiana sobre os efluentes brutos, suplementados ou não resumem-se no Quadro 2.

A variação da biomassa com a temperatura e a suplementação mineral para as modalidades ensaiadas pode ser observada na Figura 1. É evidente a dominância da temperatura sobre a suplementação mineral que reforça o factor anterior. A análise da variância dos resultados obtidos foi efectuada de acordo com a metodologia proposta por JEFFERS, 1960 resumindo-se no Quadro 3 as menores diferenças significativas entre médias com probabilidades superiores a 95% e a 99% respectivamente. A primeira coluna diz respeito a médias dos tratamentos experimentais ensaiados. A segunda coluna compara os valores das modalidades testemunha face às modalidades que receberam suplementação mineral. Finalmente a terceira coluna compara médias correspondentes às temperaturas de ensaio ensaiadas.

A variância do erro em relação à produção de biomassa para o conjunto das modalidades experimentais e respectivas repeti-

ções foi de 0,0213 g/L.

A menor diferença significativa entre os tratamentos com uma probabilidade de 95% será portanto de $\pm 0,31$ g/L, subindo para 0,42 g/L se a probabilidade passar a ser 99%. A diferença entre o valor médio das modalidades não suplementadas e suplementadas é altamente significativa. Considerando a influência de temperatura as modalidades a 20°C são mais produtivas que todas as outras atingindo-se o mínimo para 30°C, depois do que o crescimento é significativo mas sem atingir o nível inicial.

Do ponto de vista puramente quantitativo a influência da temperatura não é portanto vantajosa, ao contrário do que se verificara no caso dos efluentes de porcinos (OLIVEIRA et al, 1985 a).

A selecção microbiana induzida pelo factor temperatura reflete-se também na sua composição qualitativa com passagem de uma população mesófila para uma população termófila, cuja composição química e valor nutricional são claramente diferentes.

Assim no Quadro 4 apresentam-se algumas fracções da biomassa em termos de macro constituintes, concretamente o Azoto, o Fósforo, o Cálcio e o Magnésio, expressos em g/100g de matéria seca.

Atendendo aos resultados da análise estatística resumidos no Quadro 3, concluiu-se:

- a) A suplementação mineral conduz à diminuição dos teores em N-total e em Cálcio da Biomassa e ao aumento dos teores em Fósforo e em Magnésio.
- b) O teor em N-total aumenta entre 20 e 30°C, temperatura para a qual se atinge um máximo relativo, diminuindo depois muito marcadamente com a temperatura.

- c) No caso do teor em P o máximo é atingido aos 25°C, diminuindo depois mas mantendo-se sempre acima dos valores observados a 20°C.
- d) O teor em Calcio cresce tendencialmente com a temperatura, o mesmo se verificando quanto à % de Magnésio da biomassa produzida.

Considerando por sua vez as relações N/P, N/Ca e P/Ca verifica-se a importância dos equilíbrios físico-químicos estabelecidos entre aqueles elementos e refletidos na composição de biomassa. Nas modalidades suplementadas a formação de fosfatos de reduzida solubilidade (tais como os fosfatos de Calcio e de Magnésio) invertem a evolução dos valores das relações N/P e P/Ca em relação às modalidades não adubadas. A relação N/Ca apresenta uma evolução diferente refletindo as diluições diferentes das proteínas à medida que a temperatura varia e um relativo equilíbrio com os compostos de Calcio do protoplasma.

O objectivo final da técnica de valorização ensaiada era a melhoria da qualidade proteica da biomassa final. Daí o interesse de proceder a uma análise detalhada dos compostos azotados que no que respeita aos grandes grupos de substâncias azotadas se resume no Quadro 5.

Da análise deste Quadro, conjugado com os dados já sumariados no Quadro 3, pode concluir-se o seguinte:

- 1) À semelhança do que se verificara já para o N-total também o N-proteico tende a diminuir com a suplementação mineral da matéria prima, o mesmo se verificando com o Azoto nitroso e com o Azoto nítrico. Pelo contrário o N-não proteico e o N-amoniacoal tendem a crescer.
- 2) O teor em N-proteico acompanha o teor em N-total no que se refere à influência da temperatura, conhecendo tam-

bém um máximo relativo para os 30°C. A mesma evolução se observa no caso do N-não proteico, quer em valor absoluto, quer em % do N-total, assim como no caso dos teores em N-nitroso da biomassa. O N-amoniaco apresenta um máximo para os 25°C depois do que diminui até aos 35°C, voltando a conhecer uma subida aos 40°C, possivelmente por predominância naquelas condições de processos hidrolíticos.

A evolução do teor em Nitratos segue uma evolução paralela, explicada ao menos parcialmente pela oxidação dos nitritos e a 40°C, temperatura para a qual a sua percentagem atinge valores muito reduzidos.

A análise dos resultados até agora referidos exige contudo a apreciação da qualidade das proteínas existentes e/ou produzidas. Procedeu-se por isso à hidrólise ácida da biomassa, recorrendo a uma solução concentrada de HCl 7N, de acordo com as normas da CEE. Deste modo não pode ser quantificado o teor em Triptofano daquelas proteínas. As reduzidas exigências nutricionais conhecidas deste amino ácido nos animais monogástricos e omnívoros usuais determinaram também esta opção.

Os resultados obtidos resumem-se no Quadro 6 e representam a média de seis análises completas de cada um dos hidrolisados. Expressaram-se os resultados em gramas por 16g de Azoto, equivalentes pois a percentagem da Proteína bruta, admitindo a relação clássica aproximada e simplificada entre o N-total e a % de Proteínas brutas. Adoptou-se como padrão o ovo integral, pela abundância de dados existente na bibliografia obtidos de acordo com esse critério e na medida em que a biomassa obtida se destinará a alimentação animal.

Os índices percentuais dos Amino ácidos essenciais tomando como padrão o ovo integral são apresentados no Quadro 7. Verifica-se uma relativa similitude de amiogramas entre as proteínas analisadas e uma tendência para a diminuição do teor em AA essen-

ciais nas modalidades suplementadas e em especial para o caso das temperaturas de multiplicação celular mais elevadas.

Recorremos para a análise dos dados aos seguintes critérios de qualidade:

- a) Definição do Amino ácido limitante primário, que em todos os casos é o conjunto dos Amino ácidos sulfurados (Metionina + Cistina), à semelhança do que se verifica usualmente nas proteínas microbianas.
- b) Ao calculo da Classe química, ou seja ao indice percentual do amino acido limitante primário definido em a). Verifica-se uma superioridade dos indices das modalidades não suplementadas face às modalidades suplementadas e uma tendência para a diminuição à medida que a temperatura aumenta.
- c) Ao calculo do indice de Oser, média geométrica dos indices percentuais de todos os AA essenciais que é menor nas modalidades suplementadas do que nas modalidades testemunha, para a mesma temperatura com excepção do caso das modalidades a 40°C onde a diminuição geral altera, embora não significativamente, essa relação.

Verifica-se assim que a suplementação mineral e a intensificação dos processos metabólicos de crescimento através da regulação da temperatura contribuíram de forma divergente para a alteração do teor e qualidade das proteínas presentes. Assinale-se o que o aumento da temperatura sem suplementação mineral contribuiu para a melhoria da qualidade das proteínas, obtendo-se um ótimo qualitativo a 35°C. A suplementação traduziu-se numa degradação qualitativa para todos os casos, excepto no que se refere às modalidades correspondentes a 20°C. Esta conclusão resulta da aplicação do indice de Oser e não do calculo da classe química uma vez que nesse caso o teor em S-Amino ácidos é reduzido, diminuindo

do a classe química. Eventualmente a suplementação do Enxofre foi inferior às necessidades correspondentes às disponibilidades acrescidas em N e daí a diluição dos S-Aminoácidos no total dos constituintes proteicos disponíveis.

Voltaremos a este ponto à frente ao analisar em termos globais os quantitativos de produtos exotáveis gerados pela tecnologia ensaiada.

Do ponto de vista da qualidade das proteínas de origem microbiana, importa ainda analisar os teores em Ácidos nucleicos dados os inconvenientes nutricionais da sua presença em quantidades excessivas, enquanto fonte de Ácido urico e susceptível de provocar alterações no metabolismo azotado dos animais que os utilizaram alimentariamente.

No Quadro 8 resumem-se os dados referentes aos teores em Ácidos nucleicos da biomassa obtida.

Da análise estatística dos valores obtidos e recorrendo de novo ao Quadro 3 pode concluir-se o seguinte:

- a) Os teores em Ácidos nucleicos da biomassa, tendem a diminuir com a suplementação mineral da matéria prima.
- b) Os teores em DNA e RNA aumentam com o aumento da temperatura até 35°C, conhecendo depois uma redução significativa, nomeadamente do teor em DNA.
- c) O total de DNA+RNA cresce com a temperatura duplicando praticamente a 35°C, em relação às amostras iniciais.
- d) A relação RNA/DNA tende a diminuir com a temperatura nas modalidades N₁P₁, ou seja, um decrescimo até 30°C e um crescimento para temperaturas superiores.

e) A relação N/Ácidos nucleicos diminui sempre em relação à modalidade Testemunha a 20°C quer com a temperatura, quer com a suplementação mineral.

f) A relação P/Ác. nucleicos cresce necessariamente nas modalidades suplementadas com Fósforo, sendo irregular a variação com a temperatura.

A qualidade da biomassa do ponto de vista dos ácidos nucleicos decresce pois com a intensificação da produtividade, quer à custa de nutrientes quer de energia.

Para completar o estudo da biomassa obtida, procedeu-se à sua análise de acordo com o esquema de Weende e, recorrendo aos coeficientes propostos pelo Departamento de Agricultura dos EUA, estimaram-se os valores energéticos ou calóricos correspondentes pelo método de Atwater (USDA, 1964).

Os valores obtidos são apresentados no Quadro 9, concluindo-se da sua análise e dos valores do Quadro 3, o seguinte:

- 1) A suplementação mineral conduz a uma diminuição dos teores em Proteína bruta, Gorduras (Extracto etéreo), Celulose e Glucidos, enquanto que se regista um aumento nos teores em Cinzas e nos Extractivos não azotados. O valor energético reduz-se por isso em consequência da diminuição generalizada dos nutrientes energéticos.
- 2) A influência da temperatura traduz-se de formas muito diversas consoante os constituintes considerados. Assinalámos já um aumento do teor em Proteína bruta com um máximo relativo aos 30°C, decrescendo depois acentuadamente.

A evolução dos Glucidos e dos seus grupos constituintes (Celulose Extractivos não azotados) tem uma evolução simétrica, ou

seja, mínimo relativo a 30°C, subindo depois acima até das modalidades a 20°C, quando se atinge os 40°C.

O teor em Gorduras decresce continuamente com a temperatura, atingindo a 40°C, 45% do valor que tinha inicialmente.

O teor em Cinzas cresce com a temperatura, com uma ligeira irregularidade a 30°C, reflexo do acréscimo da produção orgânica e eventualmente a processos de precipitação química acelerados.

Na sequência das evoluções parcelares citadas o valor energético da biomassa tende a decrescer com a temperatura, com uma irregularidade a 30°C, reflexo das singularidades já atrás referidas. A 40°C o valor energético da biomassa obtido é de 15% inferior ao da obtida a 20°C.

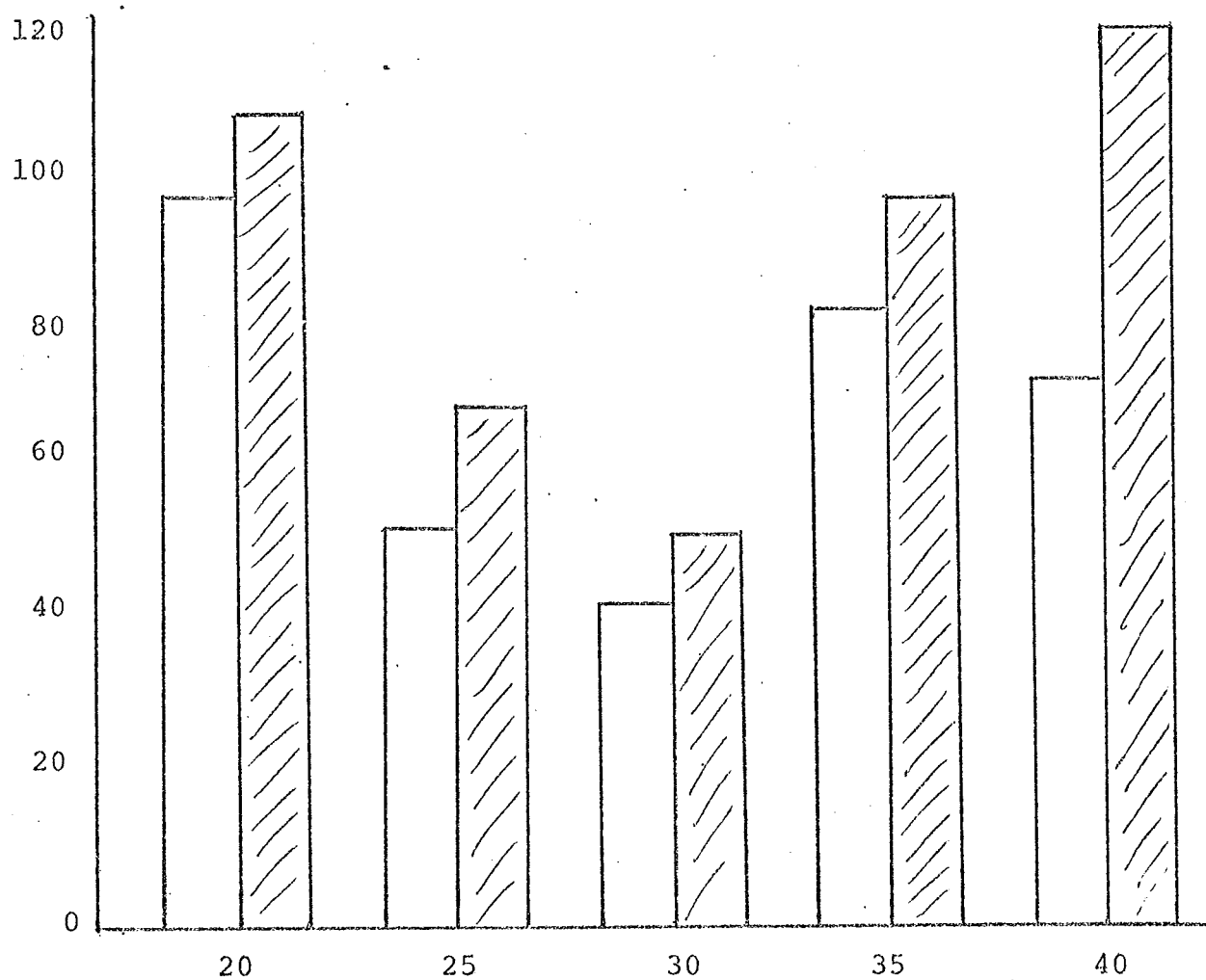
Finalmente e procurando analisar globalmente aspectos quantitativos e qualitativos determinaram-se as exportações potenciais, correspondentes à biomassa produzida, de Proteína bruta, de Proteína pura e de calorias, cujos valores se resumem no Quadro 10. Como é óbvio poderia ter-se procedido a cálculos análogos para outros constituintes mas julgou-se desnecessário.

Dos valores dos Quadros 3 e 10 pode concluir-se que:

- a) A suplementação mineral aumentou de forma altamente significativa a produção de Proteína bruta e de calorias e de forma significativa a produção de Proteína pura.
- b) A temperatura conduz ao decréscimo de todas as produções calculadas, mas observa-se uma subida e um máximo relativo (inferior ao valor a 20°C) para a biomassa obtida a 35°C.

Poderia ter-se procedido ao ajustamento de uma equação polinomial aos dados disponíveis, mas não se considerou necessário dado o carácter globalmente negativo dos resultados obtidos.

FIGURA 1 - Histogramas das produções de biomassa obtidas recorrendo à modalidade Testemunha a 20°C, como índice 100



QUADRO 1 - Características do efluente bruto da criação de bovinos utilizado nos ensaios de produção de biomassa microbiana

Parametro determinado nas amostras	Valor médio
pH (unidades)	8,74
Potencial redox (mV)	-274
Oxigênio dissolvido ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)	0
Carência Química de Oxigênio ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)	
amostra original	28870
amostra filtrada	20522
Carbono Orgânico Total (mg C L^{-1})	8752
Côr (unidades Pt-Co)	8000
Turbidez (FTU)	2500
Sólidos Totais (g L^{-1})	25,83
Sólidos Voláteis totais (g L^{-1})	9,07
Sólidos Fixos Totais (g L^{-1})	16,76
Sólidos em suspensão (g L^{-1})	7,28
Sólidos voláteis em suspensão (g L^{-1})	3,58
Sólidos voláteis em solução (g L^{-1})	5,49
Sólidos fixos em suspensão	3,70
Sólidos fixos em solução	13,06
Acidez ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	0
Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	1050
Azoto total (mg N L^{-1})	2457,6
Azoto proteico (mg N L^{-1})	150,86
Azoto amoniacal (mg N L^{-1})	1507,0
Azoto nitrico (mg N L^{-1})	483,0
Azoto nitroso (mg N L^{-1})	4,8
Fósforo total (mg P L^{-1})	125,5
Ortofosfatos (mg P L^{-1})	104,48
Cálcio (mg Ca L^{-1})	655,12
Magnésio (mg Mg L^{-1})	196,08

QUADRO 2 - Produção de biomassa e características do sobrenadante em função da temperatura e dos nutrientes disponíveis

Temp.	Tratamento		pH (sobr.)	Condutividade (sobrenadante)	Absorvância				Biomassa produzida (g L ⁻¹)
	Temp.	Nutrientes			0 Hr.	24 Hr.	48 Hr.	66Hr.	
20		Test.	8,94	35000	4,0	4,0	5,0	5,5	4,35
		N ₁ P ₁	8,94	40000	3,9	4,5	5,1	5,5	4,84
25		Test.	9,03	32500	2,9	3,0	4,1	4,1	2,33
		N ₁ P ₁	8,00	37500	3,0	3,5	4,5	5,5	3,09
30		Test.	8,88	35000	3,0	3,0	6,1	6,1	1,90
		N ₁ P ₁	8,99	36000	2,5	3,0	4,5	5,0	2,33
35		Test.	9,68	35000	4,0	4,8	7,0	7,5	3,70
		N ₁ P ₁	9,92	34000	3,9	4,8	6,1	6,7	4,35
40		Test.	10,42	26000	3,0	3,0	5,5	5,5	3,20
		N ₁ P ₁	10,05	34000	3,5	5,5	6,2	6,7	5,37

QUADRO 3 - Menores diferenças significativas com probabilidades superiores a 95% ou a 99% respectivamente entre os valores médios de tratamentos experimentais, de modalidades de suplementação mineral e de temperaturas dos ensaios

Parametro	Entre tratamentos		Entre mod.supl.min.		Entre temperaturas	
	P>95%	P>99%	P>95%	P>99%	P>95%	P>99%
Prod.de Biomassa	0,31	0,42	0,14	0,19	0,22	0,30
N-total	0,064	0,085	0,029	0,039	0,045	0,062
Fósforo	0,007	0,009	0,003	0,004	0,005	0,006
Cálcio	0,421	0,576	0,188	0,258	0,298	0,407
Magnésio	0,234	0,320	0,105	0,143	0,166	0,226
N-proteico	0,007	0,010	0,003	0,005	0,005	0,007
N-não proteico	0,066	0,091	0,030	0,041	0,047	0,064
N-amoniacal	0,011	0,015	0,005	0,007	0,008	0,011
N-nitroso	0,00024	0,00033	0,00011	0,00015	0,00017	0,00023
N-nitrico	0,011	0,016	0,005	0,007	0,008	0,011
Cinzas	2,60	3,55	1,16	1,59	1,84	2,51
Proteína bruta	0,400	0,531	0,181	0,244	0,281	0,388
Extracto etéreo	0,018	0,011	0,004	0,005	0,006	0,008
Glucidos	2,29	3,12	1,02	1,40	1,62	2,21
Extractivos não azotados	2,13	2,91	0,95	1,30	1,51	2,06
Celulose	0,27	0,37	0,12	0,16	0,19	0,26
Valor calórico	7,65	10,45	3,42	4,67	5,41	7,39
DNA	0,31	0,42	0,14	0,19	0,22	0,30
RNA	0,70	0,96	0,31	0,43	0,50	0,68
Produção de Prot. bruta	0,087	0,119	0,039	0,053	0,061	0,084
Prod. Proteína pura	0,064	0,088	0,029	0,039	0,046	0,062
Prod. calorías	0,577	0,789	0,258	0,353	0,408	0,558

QUADRO 4 - Características de algumas frações de biomassa (valores expressos em g.100 g mat. seca)

Tratamento		N	P	Ca	Mg	N/P	N/Ca	P/Ca
Temp.	Nutrientes							
20	Test.	4,005	1,432	8,199	0,946	2,80	0,49	0,17
	N ₁ P ₁	3,974	4,652	6,197	1,175	0,85	0,64	0,75
25	Test.	4,453	1,713	8,186	0,966	2,60	0,54	0,21
	N ₁ P ₁	4,108	6,282	6,468	1,118	0,65	0,64	0,97
30	Test.	6,090	1,444	7,982	1,030	4,22	0,76	0,18
	N ₁ P ₁	4,616	5,794	6,477	1,503	0,80	0,71	0,89
35	Test.	4,440	1,513	8,620	1,154	2,93	0,52	0,18
	N ₁ P ₁	3,926	5,302	6,507	1,612	0,74	0,60	0,81
40	Test.	2,982	1,588	8,989	1,678	1,88	0,33	0,18
	N ₁ P ₁	2,259	4,626	7,100	2,215	0,49	0,32	0,65
Variância do erro		9,38x10 ⁻⁴	9,67x10 ⁻⁶	4,02x10 ⁻²	1,24x10 ⁻²	—	—	—

QUADRO 5 - Fracções azotadas da biomassa azotada produzida (valores expressos em gramas de Azo to por 100 gramas de matéria seca)

Tratamentos		N-total (Kjel- dahl)	N-pro- teico	N-não- protei- co	N-amonia- cal	N-nitro- so	N-nitri- co
Temp.	Nutrientes						
20	Test.	4,005	3,749	0,256	0,0040	0,0005	0,074
	N ₁ P ₁	3,974	3,212	0,762	0,1305	0,00018	0,101
25	Test.	4,453	3,798	0,655	0,0053	0,0018	0,113
	N ₁ P ₁	4,108	3,367	0,741	0,1474	0,0010	0,098
30	Test.	6,090	5,084	1,006	0,0026	0,0021	0,062
	N ₁ P ₁	4,616	3,313	1,303	0,1156	0,0010	0,043
35	Test.	4,440	3,706	0,734	0,0028	0,0006	0,044
	N ₁ P ₁	3,926	3,353	0,573	0,0986	0,0004	0,044
40	Test.	2,982	2,418	0,564	0,0143	0,0001	0,056
	N ₁ P ₁	2,259	1,927	0,332	0,1180	0,00008	0,054
Variância do erro		$9,38 \times 10^{-4}$	$12,36 \times 10^{-6}$	$10,02 \times 10^{-4}$	$27,75 \times 10^{-6}$	$1,30 \times 10^{-8}$	$29,48 \times 10^{-6}$

QUADRO 6 - Teores em Amino ácidos dos hidrolisados das proteínas da biomassa produzida nas diferentes modalidades experimentais expressos em gramas por 16g de Azoto

Aminoácido	20°C		25°C		30°C		35°C		40°C	
	Test.	N ₁ P ₁	Test.	N ₁ P ₁	Test.	N ₁ P ₁	Test.	N ₁ P ₁	Test.	N ₁ P ₁
Ac. aspartico	8,36	7,78	7,20	6,82	6,14	7,25	8,68	5,69	6,79	6,69
Treonina	3,81	3,46	3,33	3,01	2,70	3,13	3,71	3,06	2,96	3,05
Serina	3,58	4,03	3,75	3,94	2,46	3,54	3,53	2,68	3,41	3,62
Ac. glutamico	11,63	10,01	10,22	9,34	10,30	9,96	11,52	8,26	8,82	8,57
Glicina	3,93	3,57	3,36	3,18	2,93	3,15	3,07	2,65	3,14	3,18
Alanina	5,36	4,68	4,75	4,39	4,70	4,64	5,19	4,00	3,90	3,90
Cistina	0,59	0,36	0,56	0,42	0,48	0,39	0,60	0,40	0,38	0,40
Valina	3,39	3,54	3,36	3,18	3,22	3,28	4,08	2,23	2,89	2,49
Metionina	0,95	0,63	1,01	0,64	0,96	0,88	1,09	0,80	0,64	0,71
Isoleucina	3,50	3,10	2,79	2,86	2,76	2,83	3,58	2,68	2,60	2,47
Leucina	5,82	5,18	4,79	4,83	4,83	4,99	5,98	4,24	4,20	4,06
Tirosina	1,42	1,41	1,58	1,32	1,66	1,15	2,10	1,33	1,28	1,31
Fenil Alanina	1,91	2,44	2,60	1,72	2,98	1,64	3,36	1,88	1,53	1,90
Histidina	1,41	1,30	1,26	1,19	1,19	1,25	1,45	1,07	0,94	0,96
Lisina	4,14	3,77	3,69	3,63	3,15	3,42	4,17	3,13	3,40	3,10
Amoniaco	0,74	0,73	1,18	1,01	0,50	0,46	0,29	0,52	1,47	1,62
Arginina	2,90	2,52	3,25	2,23	3,74	2,24	2,79	2,94	2,79	2,20

QUADRO 7 - Índices percentuais dos Amino ácidos essenciais em relação ao padrão ovo e índices de qualidade globais (Classe química e Índice de Oser)

	20°C		25°C		30°C		35°C		40°C	
	T	N ₁ P ₁	T	N ₁ P ₁	T	N ₁ P ₁	T	N ₁ P ₁	T	N ₁ P ₁
Arginina	45	39	51	35	58	35	44	46	44	34
Histidina	56	52	50	48	48	50	58	43	38	38
Fenil Alanina	33	42	44	29	51	28	57	32	26	32
Tirosina	32	31	35	29	37	26	47	30	28	29
A.A.aromáticos	32	37	40	29	45	27	53	31	27	31
Isoleucina	50	44	40	41	39	40	51	38	37	35
Leucina	63	56	52	52	52	54	64	46	45	44
Lisina	59	53	52	51	45	49	59	44	48	44
Metionina	26	17	28	18	26	24	30	22	18	19
Cistina	26	10	15	12	13	11	16	11	10	11
S-Aminoácidos	26	17	27	18	24	22	29	20	17	19
Treonina	78	71	68	61	55	64	76	62	60	62
Valina	47	49	46	44	44	45	56	31	40	34
Classe química	26	17	27	18	24	22	29	20	17	19
Índice de Oser	37	44	46	40	44	41	53	38	38	36

QUADRO 8 - Teores em Ácidos nucleicos de biomassa microbiana produzida, expressos em mg/100 g de matéria seca

Tratamentos		D N A	R N A	DNA+ +RNA	R N A D N A	N DNA+RNA	N.prot. DNA+RNA	p DNA+RNA
Temp.	Nutrie.							
20	Test.	1,01	2,73	3,74	2,70	1,08	1,00	0,38
	N ₁ P ₁	1,24	2,55	3,79	2,06	1,05	0,85	1,23
25	Test.	1,18	2,86	4,04	2,42	1,10	0,94	0,42
	N ₁ P ₁	1,27	2,79	4,06	2,20	1,01	0,83	1,55
30	Test.	2,42	3,18	5,60	1,31	1,09	0,91	0,26
	N ₁ P ₁	2,29	3,12	5,41	1,36	0,85	0,61	1,07
35	Test.	2,82	3,36	6,18	1,19	0,72	0,60	0,24
	N ₁ P ₁	2,07	3,54	5,60	1,71	0,70	0,60	0,95
40	Test.	1,78	2,42	4,20	1,36	0,71	0,58	0,38
	N ₁ P ₁	1,35	2,26	3,61	1,67	0,63	0,53	1,28
Variância de erro		2,17 ²	1,23x10 ²	-	-	-	-	-

QUADRO 9 - Constituintes com significado nutricional de acordo com o esquema analítico de Weende, expressos em gramas por 100g de matéria seca ou em Calorias por 100g recorrendo aos coeficientes propostos por Atwater

Tratamentos		Cinzas	Proteína bruta	Extracto etéreo	Glucidos	Extr. não azotados	Celulose	Valor calóri
Temp.	Nutrientes							
20	Test.	44,28	25,03	1,72	28,97	6,36	22,61	186,5
	Nutri.	48,16	24,84	1,30	25,70	7,24	18,46	171,5
25	Test.	43,96	27,83	1,26	26,95	6,57	20,38	184,3
	Nutri.	51,26	25,68	0,76	22,30	5,75	16,55	158,1
30	Test.	40,95	38,06	1,08	19,91	2,40	17,51	189,9
	Nutri.	50,18	28,85	0,54	20,43	5,16	15,27	159,5
35	Test.	46,09	27,75	1,05	25,11	1,58	23,53	176,2
	Nutri.	51,34	24,54	0,60	23,52	6,54	16,98	157,4
40	Test.	51,96	18,64	0,77	28,63	4,56	24,07	158,3
	Nutri.	55,44	14,12	0,58	29,86	9,36	20,50	147,2
Variância do erro		1,5336	$58,62 \times 10^{-4}$	$15,94 \times 10^{-6}$	1,1850	1,0312	$1,62 \times 10^{-2}$	13,26

QUADRO 10 - Valores absolutos expressos em g.L⁻¹ e valores relativos tomando como indice 100 o correspondente à modalidade Testemunho a 20°C, das exportações geradas pela produção de biomassa

Tratamento		Prod.de prot: bruta	Indice	Prod.de prot. pura	Indice	Prod.de calo- rias	Indice
Temp.	Nutrientes						
20	Test.	1,089	100	1,020	100	8,117	100
	N ₁ P ₁	1,200	110	0,971	95	8,290	102
25	Test.	0,647	59	0,552	54	4,285	53
	N ₁ P ₁	0,680	62	0,650	64	4,877	60
30	Test.	0,738	68	0,602	59	3,600	44
	N ₁ P ₁	0,680	62	0,488	48	3,758	46
35	Test.	1,026	94	0,856	84	6,507	80
	N ₁ P ₁	1,068	98	0,912	89	6,846	84
40	Test.	0,596	55	0,483	47	5,056	62
	N ₁ P ₁	0,758	70	0,646	63	7,896	97
Variância de erro		17,12x10 ⁻²	—	9,44x10 ⁻⁴	—	7,56x10 ⁻²	—

4. Conclusões

A redução das cargas orgânicas geradas pelas indústrias de criação animal constitui um objectivo inadiável dos responsáveis pela manutenção da qualidade do Ambiente em Portugal e pela observância das directivas das CEE sobre a qualidade da Água.

Uma das estratégias de adopção possível é o tratamento dos efluentes gerados por aquelas indústrias, o que implica a aplicação de técnicas de depuração biológica de índole vária. Outra das alternativas possíveis (e se possível complementar) é a valorização desses efluentes e/ou de alguns dos subprodutos obtidos a partir dessa matéria prima.

Nessa perspectiva se inserem as técnicas de "refeeding" ou de reutilização alimentar dos efluentes, cujo interesse e viabilidade, numerosos autores estudaram e cuja aplicação é comum em algumas zonas. No caso dos efluentes de bovinos leiteiros tivemos já ocasião de estudar a respectiva biodegradabilidade (OLIVEIRA et al, 1986 a) e as possibilidades abertas pela suplementação mineral (OLIVEIRA et al, 1986 b). Procurou-se à semelhança do que fizera no caso dos efluentes de suínos averiguar do interesse da intensificação de crescimento microbiano através do controlo da temperatura ambiente.

Contudo no caso dos efluentes de suínos a influência da temperatura era benéfica, por se traduzir num acréscimo quantitativo muito importante (OLIVEIRA et al, 1985), embora sem melhorias qualitativas evidentes. Procurou-se no caso dos efluentes de bovinos efectuar uma análise mais aprofundada da qualidade da biomassa, procedendo à determinação da constituição em aminoácidos das proteínas obtidas.

Verificou-se uma melhoria da qualidade proteica com o aumento da temperatura nas modalidades não suplementadas com minerais, obtendo-se um óptimo relativo a 35°C.

O índice de Oser regista um acréscimo de 43% em relação à modalidade testemunha a 20°C.

De qualquer modo a adição de nutrientes (N e P) não se traduz por melhorias significativas quer em quantidade quer em qualidade, excepto no caso da modalidade N_1P_1 a 40°C, cuja produção apresenta um acréscimo de 23% face à modalidade testemunha a 20°C e de 11% face à modalidade N_1P_1 à mesma temperatura.

Considerando que a suplementação mineral a 20°C melhora em 10% a remoção de poluentes (OLIVEIRA et al, 1986 b) a aplicação dessa técnica parece justificada do ponto de vista da depuração biológica (mas não necessariamente do ponto de vista económico, a testar caso a caso). O aumento da temperatura, pela melhoria da qualidade da biomassa que induz, deverá pois ser analisada sem considerar a suplementação mineral (pelo menos a ensaiada).

Concluiu-se portanto pela inexistência de uma melhoria significativa da qualidade da biomassa microbiana obtida a partir dos efluentes oriundos da criação de bovinos leiteiros, quando se procura intensificar essa produção recorrendo a nutrientes supostamente limitantes ou a acréscimos da temperatura ambiente. A melhoria de qualidade obtem-se apenas com o acréscimo da temperatura e sem adição de nutrientes, embora a produção não seja aumentada nesse caso. Não há pois benefícios económicos resultantes da aplicação a este tipo de efluentes da técnica proposta.

B I B L I O G R A F I A

- 1 - AOAC - Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists 11th Ed. Washington, 1970.
- 2 - Gaspar, N.; Gaspar, A; Oliveira, J.S. - Characterization and treatment of swine effluents in Portugal. Istanbul, Simp. Environ. Manag. for Devel. Countries, 1984.
- 3 - Martin, Jr. J.H.; Loehr, R.C.; Pilbeam, T.E. - Animal Manures as feedstuffs: nutrient characteristics. Agric. Wastes 7 1983 p.131-166.
- 4 - Martin, Jr. J.H.; Loehr, R.C.; Pilbeam, T.E. - Animal Manures as Feedstuffs: cattle manure feeding trials. Agric. Wastes 7 1983, p.81-110.
- 5 - Netto, Isodoro. - Análise de gêneros alimentícios. Lisboa, Ed. do Autor, 1959, 487p.
- 6 - Oliveira J.S. - Proteínas Vegetais. Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 1976.
- 7 - Oliveira, J.S.; Ganho, R.; Camara, A. Biomass production from swine effluents. Wissenschaft und Wessel 4 1983. p-252-262.
- 8 - Oliveira, J.S. et al - The influence of temperature on biomass production from swine effluents. Wissenschaft und Wessel 1 1985: 91-100
- 9 - Oliveira, J.S. et al. - Biodegradability of swine effluents. I. Oxygen consumption. Acta Biotechnology. 5(3): 245-250.
- 10 - Oliveira, J.S. et al - Biodegradability of swine effluents. II - Kinetics of pollutants removal. Acta Biotechnology 5(3): 251-261

- 11 - Oliveira, J.S. et al - Biodegradability of dairy cattle breeding effluents. Kinetics of pollutants removal. (1986 a)
(Em publicação)
- 12 - Oliveira, J.S. et al - Biomass production from dairy cattle effluents. (1986 b) (Em publicação)
- 13 - Taiganides, E.P. - Bioengineering properties feedlot wastes in "animal wastes". Taiganides E.P.(Ed.) Applied Science Publ. London, 1977 p.131-153.
- 14 - _____ , - Composition of foods. Washington, USDA, 1964, 190 p. (Agriculture Handbook n98)
- 15 - Jeffers, J.N.R. - Delineamento experimental e análise estatística em Investigação Florestal. Trad.A.F. Oliveira.Lisboa, D.G.S.F.A.