



## **Diogo Miguel Veríssimo Salvaterra**

Licenciado em Ciências da Engenharia Física

### **Produção de Biogás a partir de Ácidos Orgânicos provenientes de um biorreator de “Dark Fermentation”**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia de Energias Renováveis

Orientador: Professor Doutor Nuno Lapa, Professor Auxiliar,  
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Professor Doutor Mário Ventim, Professor Auxiliar,  
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Professor Doutor Stanimir Stoyanov Valtchev (FCT/UNL)

Arguente: Professora Doutora Elizabeth de Almeida Duarte (ISA/UL)

Vogais: Professor Doutor Nuno Lapa (FCT/UNL)



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro, 2019



**Produção de Biogás a partir de Ácidos Orgânicos provenientes de um biorreator de “Dark Fermentation”**

Copyright © Diogo Miguel Veríssimo Salvaterra, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



*Para ti, pai, mãe...*



## Agradecimentos

Ao professor Doutor Nuno Lapa, Professor Auxiliar da FCT-UNL, por me ter dado a oportunidade de realizar este trabalho, bem como pela orientação no trabalho laboratorial e ajuda na parte escrita da dissertação, amizade e conhecimentos transmitidos.

Ao professor Doutor Mário Ventim, Professor Auxiliar da FCT-UNL, por me ter dado a oportunidade de frequentar o Mestrado em Engenharia das Energias Renováveis e por ter coorientado este trabalho.

À Sr<sup>a</sup>. Rita Braga, técnica do DCTB/FCT/UNL, e à Sr<sup>a</sup>. Rosa Pinto, auxiliar de laboratório do DCTB/FCT/UNL, pela ajuda e por manterem sempre o laboratório e os materiais disponíveis para todos os alunos.

À Elena Surra, aluna de Doutoramento, da FCT-UNL, pelo apoio, simpatia, conselhos e motivação.

Ao Diogo Dias, aluno de Doutoramento, da FCT-UNL, pelo apoio no laboratório, pela amizade, pelos momentos de companheirismo e pelo sportinguismo.

Aos meus colegas de laboratório, Inês e Cadu, pelo apoio, espírito de equipa e momentos de procrastinação.

Ao Miguel, pela amizade, convivência no laboratório, momentos de companheirismo, e pelos momentos de descontração no Mininova às quartas.

Aos meus pais, os principais responsáveis pela minha existência e por todo o meu percurso académico, sem eles não teria sido possível.

À Maria Moreira, porto seguro dos momentos mais difíceis, pela paciência, compreensão, apoio, conselhos, amizade, amor e motivação. É um exemplo e uma inspiração.

Aos meus amigos, Pedro e Luís, pela amizade desde sempre.

Ao **Laboratório Associado para a Química Verde – LAQV** financiado por fundos nacionais através da FCT/MCTES (UID/QUI/50006/2019).

À Valorsul, por permitir a recolha de amostras nas suas instalações ao longo do trabalho experimental.





## Resumo

A presente dissertação tem como objetivo avaliar as diferenças nos rendimentos de produção de biogás e metano, através de um processo de metanogênese, quando o biorreator é alimentado com a Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos (FORSU) e quando é alimentado com Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs) produzidos num biorreator de *dark fermentation* (DF), a partir de FORSU.

No presente estudo foram realizados três ensaios experimentais de forma a comparar o desempenho de conversão do substrato orgânico em biogás. No primeiro ensaio (designado por FORSU), foi utilizada FORSU como substrato orgânico. No segundo e terceiro ensaios (designados por AOV4 e AOV5, respetivamente), foram utilizados substratos orgânicos ricos em AOVs produzidos num biorreator de DF, alimentado com FORSU, e operado com Tempos de Retenção Hidráulicos (TRH) de 4 e 5 dias, respetivamente. Estes substratos orgânicos foram obtidos durante um estudo de produção de bioH<sub>2</sub>, realizado num outro trabalho de mestrado que decorreu em paralelo com a presente dissertação.

Os ensaios em que se utilizou um substrato rico em AOVs apresentaram um melhor desempenho de conversão do substrato orgânico em biogás comparativamente ao ensaio que utilizou FORSU como substrato. Os resultados experimentais, nomeadamente, a maior concentração de metano no biogás, os melhores rendimentos de produção de biogás e metano e o maior potencial de produção de energia elétrica sustentam esta observação.

O ensaio AOV4, com uma carga volúmica aplicada de 2,81 g SV/(L.d), apresentou os melhores rendimentos de produção de biogás e metano (987 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub> e 721 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub>). Este ensaio apresentou ainda a maior concentração de metano no biogás (73,1% v/v) e o maior potencial de produção de energia elétrica (7,2 kWh/kg SV<sub>aplicados</sub>).

Em suma, a metanogênese de um substrato orgânico rico em AOVs, produzidos por *dark fermentation* de FORSU, apresenta um melhor desempenho do que a DA de FORSU.

**Palavras-chave:** Ácidos Orgânicos Voláteis; Biogás; Digestão Anaeróbia; Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos



# Abstract

The purpose of this work is to evaluate the differences in biogas and methane yields, through a methanogenic process when the bioreactor is fed with the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes (OFMSW) and when is fed with Volatile Fatty Acids (VFAs) produced in a dark fermentation bioreactor by using the OFMSW.

In this study, three experimental assays were performed in order to compare the performance of organic substrate conversion into biogas. In the first assay (named as OFMSW), OFMSW was used as the organic substrate. In the second and third assays (named as VFA4 and VFA5), organic substrates rich in VFAs were used, which have been produced in a dark fermentation bioreactor fed with OFMSW and operated with Hydraulic Retention Times (HRT) of 4 and 5 days, respectively. These organic substrates were obtained during a bioH<sub>2</sub> production study, carried out in another MSc work that took place in the same time with the present dissertation.

The assays in which an organic substrate rich in VFAs was used revealed a better performance on the conversion of the organic substrate in biogas, comparing to the assay with OFMSW. The experimental results, namely, the highest methane concentration in biogas, the better biogas and methane yields and the highest electric energy potential support this observation.

The assay VFA4, with an OLR of 2.81 g VS/(L,d), presented the best biogas and methane yields (987 L<sub>biogas</sub>/kg VS<sub>applied</sub> e 721 L<sub>methane</sub>/kg VS<sub>applied</sub>). This assay also presented the biggest methane concentration (73.1 % v/v) and the highest electric energy potential (7.2 kWh/kg VS<sub>applied</sub>).

In conclusion, the methanogenesis of an organic substrate rich in VFAs produced in a dark fermentation bioreactor presents a better performance than the AD of OFMSW.

**Keywords:** Anaerobic Digestion, Biogas, Organic Fraction of Municipal Solid Wastes, Volatile Fatty Acids



# Índice de Matérias

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. DESCRIÇÃO DO PROBLEMA .....	3
1.2. RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS .....	4
1.3. ÁCIDOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS PRODUZIDOS POR <i>DARK FERMENTATION</i> .....	5
1.4. DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	6
1.4.1. Etapas da DA.....	6
1.4.2. Parâmetros que condicionam a Metanogénese .....	10
1.4.2.1. <i>Temperatura</i> .....	10
1.4.2.2. <i>pH</i> .....	11
1.4.2.3. <i>Macro e Micronutrientes</i> .....	12
1.4.2.4. <i>Inibidores</i> .....	13
1.4.2.5. <i>Tempo de Retenção Hidráulico</i> .....	15
1.4.2.6. <i>Carga Orgânica Aplicada</i> .....	16
1.4.2.7. <i>Agitação</i> .....	16
1.5. BIOGÁS COMO PRINCIPAL PRODUTO DA METANOGÉNESE .....	17
1.6. ESTADO DE ARTE .....	20
1.7. OBJETIVOS E CARÁTER INOVADOR.....	21
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
2.1. SUBSTRATOS ORGÂNICOS .....	23
2.2. UNIDADE LABORATORIAL E CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO.....	24
2.2.1. Procedimento Experimental de Alimentação.....	27

2.2.2.	Procedimento Experimental de Controlo e Monitorização.....	28
2.2.3.	Procedimento Experimental de Quantificação do Biogás.....	29
2.3.	ENSAIOS EXPERIMENTAIS .....	29
2.3.1.	Inoculação do Biorreator Anaeróbio .....	29
2.3.2.	Alimentação do Biorreator Anaeróbio.....	30
2.3.3.	Caracterização do Afluente e Efluente .....	31
2.3.3.1.	<i>Determinação dos Teores de Sólidos.....</i>	31
2.3.3.2.	<i>Determinação da CQOt e CQOs .....</i>	32
2.3.3.3.	<i>Determinação do Azoto de Kjeldahl e Azoto Amoniacal .....</i>	33
2.3.3.4.	<i>Determinação do Fósforo Total .....</i>	35
2.3.3.5.	<i>Análise Elementar e Análise de Ácidos Orgânicos Voláteis.....</i>	36
2.3.4.	Análise Quantitativa e Qualitativa do Biogás.....	37
2.3.5.	Quantificação de Cargas Aplicadas, Eficiência de Remoção, Razão de Biodegradabilidade e Rendimentos de Produção de Biogás e Metano .....	37
2.3.6.	Potencial Energético.....	39
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
3.1.	PARÂMETROS DE CONTROLO .....	41
3.2.	CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE DO BIORREATOR EM CADA ENSAIO .....	43
3.2.1.	CARGA VOLÚMICA APLICADA .....	48
3.2.2.	ANÁLISE DAS EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE SÓLIDOS, CQO, RAZÃO DE BIODEGRADABILIDADE E NUTRIENTES .....	50
3.2.2.1.	ST e SV.....	50
3.2.2.2.	CQOt e CQOs.....	51
3.2.2.3.	Nutrientes.....	53
3.2.3.	AValiação da Estabilidade Metanogénica pelos AOVs .....	55
3.3.	ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA DO BIOGÁS .....	57
3.4.	RENDIMENTOS DE PRODUÇÃO DE BIOGÁS E METANO .....	60
3.5.	POTENCIAL ENERGÉTICO DO BIOGÁS.....	61
3.6.	COMPARAÇÃO COM A BIBLIOGRAFIA.....	62
<b>4.</b>	<b>CONCLUSÕES E SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO .....</b>	<b>65</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>67</b>

## Lista de Figuras

Figura 1.1. Esquema dos dois estágios utilizados para a produção de biogás: (A) biorreator de <i>dark fermentation</i> (estudado numa dissertação que decorreu em paralelo ao presente trabalho de mestrado); (B) biorreator metanogénico (estudado no presente trabalho de mestrado). ....	3
Figura 1.2. Caracterização físicas dos RSU em Portugal, no ano de 2017 (APA, 2018). ....	4
Figura 1.3. Esquema representativo das etapas que compõem a DA e das respetivas vias metabólicas (Adaptado de Lapa et al. (2018)). ....	7
Figura 1.4. Taxa de degradabilidade dos substratos orgânicos em função da temperatura de operação do biorreator metanogénico (Adaptado de Akunna, 2015). ....	11
Figura 1.5. TRH em função da composição da matéria orgânica (Adaptado de Akunna, 2015). ....	15
Figura 2.1. Amostras dos substratos orgânicos utilizados. (A) Amostra de FORSU; (B) Amostra do efluente do biorreator de <i>dark fermentation</i> rico em AOVs. ....	24
Figura 2.2. Biorreator anaeróbio de mistura completa. Legenda: (1) Recipiente cilíndrico de acrílico, com um volume de 2,75 L; (2) Tubo de saída do biogás; (3) Tubo de entrada do afluente; (4) Tubo de saída do efluente; (5) Tubo de recirculação; (6) Bomba peristáltica ( <i>Watson Marlow</i> , modelo 302S) para forçar a entrada do afluente e para realizar a recirculação do conteúdo do biorreator; (7) Placa de agitação magnética ( <i>Agimatic-N</i> ); (8) Medidor de temperatura ( <i>Hanna Instruments</i> , modelo HI 9053); (9) Tubo de entrada de água na serpentina de aquecimento; (10) Isolamento em fibra de vidro do biorreator e da serpentina de aquecimento. ....	25
Figura 2.3. Sistema de armazenamento e quantificação do biogás produzido no biorreator anaeróbio. Legenda: (1) Colunas de água; (2) Tubo de condução do biogás do biorreator para as colunas; (3) Tubo de saída do biogás das colunas; (4) Tubo de saída do biogás para armazenamento em sacos <i>Tedlar</i> . ....	26
Figura 2.4. Banho de aquecimento de água ( <i>Nüve bath</i> , modelo NB 20) que alimenta o sistema de aquecimento do biorreator. ....	26
Figura 2.5. Esquema da unidade laboratorial. Legenda: B – Biorreator; C# – Coluna de armazenamento; PRB# – Ponto de Recolha de Biogás. ....	27

Figura 2.6. Biorreator anaeróbio numa fase de alimentação. Legenda: (1) Funil de entrada do afluente; (2) Tubo de saída do efluente; (3) Tubo de saída do biogás. ....	28
Figura 2.7. Reta de calibração de fósforo. ....	36
Figura 2.8. Recolha de biogás em sacos <i>Tedlar</i> de 10 L. ....	37
Figura 3.1. Cargas volúmicas de SV e CQOs aplicadas ao biorreator anaeróbio, em cada ensaio. ....	49
Figura 3.2. Eficiência de remoção de ST e SV de cada ensaio metanogénico. ....	50
Figura 3.3. Eficiência de remoção da CQOt e CQOs de cada ensaio metanogénico. ....	51
Figura 3.4. Razão de biodegradabilidade do afluente e efluente de cada ensaio e respetiva redução de matéria orgânica. ....	52
Figura 3.5. Percentagem de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> relativamente ao N- <i>Kjeldahl</i> do afluente e efluente de cada ensaio metanogénico. ....	53
Figura 3.6. Eficiência de remoção do P de cada ensaio metanogénico. ....	54
Figura 3.7. Eficiência de remoção de AOVs (ácido acético, ácido butírico e ácido propanoico) de cada ensaio metanogénico realizado. ....	55
Figura 3.8. Volume acumulado de biogás obtido em cada ensaio, em condições PTAN. ....	57
Figura 3.9. Volume acumulado de biogás em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator, em condições PTAN. ....	58
Figura 3.10. Rendimentos de biogás e metano em função da carga volúmica aplicada de SV, em condições PTAN. ....	60
Figura 3.11. Potencial de produção de energia elétrica em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator para cada ensaio. ....	62



## Lista de Tabelas

Tabela 1.1. Emissões para a atmosfera (kg/t) (Adaptado de Singh & Basak, 2018).....	5
Tabela 1.2. Tempo de duplicação dos diferentes microrganismos da DA (Adaptado de Akunna, 2015). .....	10
Tabela 1.3. Valores de pH que favorecem diferentes microrganismos presentes num reator de DA. .	12
Tabela 1.4. Concentrações de micronutrientes que podem estimular a produção de biogás (Adaptado de Mao et al., 2015).....	13
Tabela 1.5. Concentrações inibidoras de azoto amoniacal (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) (Rajagopal et al., 2013). ....	14
Tabela 1.6. Concentrações de AOVs para diferentes níveis de estabilidade (Adaptado de Drogg, 2013). ....	14
Tabela 1.7. Composição do biogás (Akunna, 2015; Al Seadi et al., 2008).....	17
Tabela 1.8. Propriedades físicas e químicas do metano (Oliveira, 2009).....	17
Tabela 1.9. Poder calorífico de vários combustíveis em comparação com o biogás (Abbasi et al., 2012). ....	18
Tabela 1.10. Remoção de componentes do biogás em função da sua utilização (Waldron, 2014). ....	18
Tabela 1.11. Equivalência energética entre 1 m <sup>3</sup> de biogás e outros combustíveis (Oliveira, 2009)...	19
Tabela 1.12. Vantagens do biogás produzido por DA (Adaptado de Mao et al., 2015).....	20
Tabela 2.1. Caracterização química da lama anaeróbia.....	30
Tabela 2.2. Resumo das condições dos três ensaios experimentais. ....	31
Tabela 3.1. Valores médios da temperatura, pH e condutividade do digerido de cada ensaio ( $x \pm \sigma$ ). .....	41
Tabela 3.2. Caracterização físico-química do afluente e efluente de cada ensaio ( $x \pm \sigma$ ).....	43

Tabela 3.3. Concentrações dos AOVs no afluente e efluente utilizado de cada ensaio.....	46
Tabela 3.4. Resultados da análise elementar dos afluentes utilizados em cada ensaio metanogénico. .....	47
Tabela 3.5. Composição do biogás produzido em cada ensaio, em condições PTAN.....	59
Tabela 3.6. Comparação dos principais resultados do presente estudo com a bibliografia. ....	64

## Lista de Abreviaturas e Simbologia

<b>AOV4</b>	Denominação do ensaio realizado com uma carga orgânica aplicada de 2,80 g SV/(L.d).
<b>AOV5</b>	Denominação do ensaio realizado com uma carga orgânica aplicada de 2,56 g SV/(L.d)
<b>AOVs</b>	Ácidos Orgânicos Voláteis
<b>APA</b>	Agência Portuguesa do Ambiente
<b>bioH<sub>2</sub></b>	Biohidrogénio
<b>C</b>	Carbono
<b>CH<sub>4</sub></b>	Metano
<b>CO</b>	Monóxido de carbono
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COA</b>	Carga Orgânica Aplicada
<b>CQOp</b>	Carência Química de Oxigénio particulado
<b>CQOs</b>	Carência Química de Oxigénio solúvel
<b>CQOt</b>	Carência Química de Oxigénio total
<b>CSTR</b>	<i>Completely Stirred Tank Reactor</i> (reator biológico de mistura completa)
<b>DA</b>	Digestão Anaeróbia
<b>DCTB</b>	Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa
<b>DF</b>	<i>Dark Fermentarion</i> (fermentação no escuro)
<b>ETVO</b>	Estação Tratamento e Valorização Orgânica
<b>FCT-UNL</b>	Faculdade de Ciências e Tecnologias – Universidade Nova de Lisboa
<b>Fe</b>	Ferro

<b>FER</b>	Fontes de Energias Renováveis
<b>FORSU</b>	Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos
<b>GEE</b>	Gases de Efeito de Estufa
<b>GLP</b>	Gás Liquefeito de Petróleo
<b>H<sub>2</sub></b>	Hidrogénio
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfeto de hidrogénio
<b>N</b>	Azoto
<b>N-Kjeldahl</b>	Azoto total <i>Kjeldahl</i>
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Azoto Amoniacal
<b>N-Orgânico</b>	Azoto Orgânico
<b>Ni</b>	Níquel
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxigénio
<b>P</b>	Fósforo total
<b>PCI</b>	Poder Calorífico Inferior
<b>PNAER</b>	Plano Nacional de Ação para as Energias Renováveis
<b>PTAN</b>	Pressão e Temperatura Ambiente Normais
<b>RSUs</b>	Resíduos Sólidos Urbanos
<b>S</b>	Enxofre
<b>SF</b>	Sólidos Fixos
<b>SO<sub>2</sub></b>	Dióxido de enxofre
<b>ST</b>	Sólidos Totais
<b>SV</b>	Sólidos Voláteis
<b>TRH</b>	Tempo de Retenção Hidráulico
<b>UE</b>	União Europeia
<b>Zn</b>	Zinco

# 1

## Introdução

As sociedades atuais encontram-se altamente dependentes dos combustíveis fósseis e da aplicação exagerada dos seus derivados nos mais diversos setores da economia. Esta dependência tem contribuído, ao longo das últimas décadas, para o aumento das emissões de Gases com Efeito de Estufa (GEE) e para o aquecimento global (Al Seadi et al., 2008).

A sustentabilidade ambiental é a principal prioridade do século XXI (Atasoy et al., 2018) e os objetivos das políticas energéticas e ambientais da União Europeia (UE) vão ao encontro desta prioridade. De acordo com a UE (2018), pretende-se que a Europa, até 2050, se tenha tornado numa economia sustentável, livre de combustíveis fósseis e líder da produção mundial de energias renováveis. Espera-se ainda, que, em 2050, se tenha reduzido entre 80-95% das emissões de GEE, face ao ano de 1990, e que 75% do consumo final bruto de energia seja proveniente de Fontes de Energia Renovável (FER). A curto prazo, i.e. 2020, a UE espera alcançar uma redução de 20% das emissões de GEE, face ao referido ano, e que 20% do consumo final bruto de energia seja proveniente de FER.

Para que as metas anteriormente referidas sejam alcançados, a UE (2018) afirma que é necessário um maior investimento em tecnologias de produção de energia renovável. De acordo com o «Roteiro para a Energia em 2050» (Comissão Europeia, 2011), é fundamental a adoção de tecnologias de produção de energia limpa que contribuam para a mitigação das emissões de GEE, assim como para uma maior segurança energética. Os investimentos em tecnologias alternativas, como é o caso das tecnologias de valorização de resíduos, urgem em realizar-se de forma a assegurar as necessidades energéticas atuais.

A Digestão Anaeróbia (DA) é uma tecnologia de produção de bioenergia a partir de recursos renováveis, como é o caso dos resíduos (Xu et al., 2017). Deste processo resultam, como produtos, o biogás e o digerido. A utilização desta tecnologia para a produção de energias renováveis, reforça o esforço, que se tem verificado nos últimos anos, na migração dos combustíveis fósseis para fontes de energia renovável. De acordo com o Decreto-Lei nº141/2010, de 31 de dezembro, que definiu as metas

nacionais de incorporação de energias renováveis no consumo final de energia e no setor dos transportes, até 2020, 31% do consumo de energia final deverá ser proveniente de FER assim como 10% do consumo energético no setor dos transportes (Ministério da Economia, 2010).

O biogás é a fração gasosa resultante deste processo e é maioritariamente composto por metano (CH<sub>4</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Ghidotti et al., 2018). Este é considerado uma energia limpa e quando submetido a um processo de melhoramento pode ser utilizado, por exemplo, na rede de gás natural ou no setor dos transportes.

O digerido corresponde às frações sólidas e líquidas resultante da DA e pode ser valorizado como corretivo orgânico agrícola, devido ao seu conteúdo rico em nutrientes (Lei Li et al., 2018; Xu et al., 2017).

A produção de biogás a partir de Resíduos Sólidos Urbanos (RSUs) é uma boa opção para a produção de energia limpa a partir de resíduos. Ao longo das últimas décadas, a produção de RSUs tem vindo a aumentar e os atuais sistemas de tratamento de resíduos não conseguem lidar com as grandes quantidades de resíduos produzidos. A abundância destes resíduos leva-os a serem considerados uma matéria-prima com enorme potencial para valorização energética através de um processo de DA (Molino et al., 2013).

Em Portugal, no ano de 2017, foram gerados cerca de 287 GWh a partir de biogás, traduzindo-se em 1,2% do total da energia elétrica produzida a partir de FER (DGEG, 2018). Segundo o Plano Nacional de Ação para as Energias Renováveis (PNAER), estima-se que, em 2020, o contributo total do biogás na produção de energia elétrica seja de 413 GWh. A produção de biogás em Portugal provém, maioritariamente, de três setores de atividade: do sector da agropecuária, do sector agroalimentar e do sector dos resíduos sólidos urbanos e tratamento de águas residuais. Para que as metas nacionais definidas no Decreto-Lei nº 141/2010, de 31 de dezembro possam ser alcançadas, torna-se essencial a promoção de políticas de integração deste tipo de tecnologia noutros setores de atividade, como é o caso do setor agrícola (Ministros, 2013).

A DA é considerada uma tecnologia eficaz no tratamento de resíduos (Singh & Basak, 2018; Yap & Nixon, 2015), mas que, no caso da DA da Fração Orgânica de RSU (FORSU) para a produção de biogás, esta necessita de ser otimizada (Algapani et al., 2018). A otimização do processo de DA da FORSU passa pela separação do processo em dois estágios com condições distintas. No primeiro estágio promovem-se os microrganismos que são beneficiados por ambientes ácidos e que produzem Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs), e no segundo estágio promovem-se os microrganismos que são beneficiados por ambientes neutros (pH = 7).

Neste contexto surgem os AOVs produzidos em biorreatores de fermentação no escuro (*dark fermentation* – DF) para a produção de bio-hidrogénio a partir de FORSU. Os AOVs produzidos no primeiro estágio (efluente do biorreator de DF) são posteriormente aproveitados como substrato para a produção de biogás, por DA, num biorreator metanogénico (afluente do segundo estágio).

A presente dissertação apresenta o estudo da DA de AOVs produzidos num biorreator de DF.

## 1.1. Descrição do Problema

No processo de DA, a decomposição da FORSU é realizada ao longo de quatro etapas distintas (hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese), realizadas por grupos de microrganismos diferentes. Os microrganismos responsáveis pelas três primeiras etapas preferem ambientes ácidos, enquanto os microrganismos responsáveis pela quarta e última etapa preferem ambientes neutros ( $\text{pH} = 7$ ). No processo de DA da FORSU, estas quatro etapas ocorrem ao mesmo tempo no interior do biorreator, não chegando a reunir-se as condições necessárias para favorecer os diferentes microrganismos (De Gioannis et al., 2017; Micolucci et al., 2018).

A separação do processo de DA em dois estágios permite alcançar a sua otimização, uma vez que os dois grupos de microrganismos, que requerem ambientes diferentes, são separados. No primeiro estágio, constituído por um biorreator fermentativo acidogénico, as primeiras três etapas do processo de DA são favorecidas, enquanto que no segundo estágio, constituído por um biorreator fermentativo metanogénico, a última etapa é favorecida (Algapani et al., 2018).

No presente estudo pretende-se as diferenças nos rendimentos de produção de biogás e metano, através de um processo de metanogénese, quando o biorreator é alimentado com a FORSU e quando é alimentado com AOVs produzidos num biorreator de DF, a partir de FORSU (figura 1.1). A DF é um processo fermentativo de degradação da matéria orgânica que compreende as três primeiras etapas da DA e tem como objetivo a produção de biohidrogénio ( $\text{bioH}_2$ ). Deste processo, resultada ainda uma fração sólida e líquida – o efluente, rico em AOVs. Os AOVs são produtos intermédios do processo de DA e, segundo Ghidotti et al. (2018), são considerados uma boa matéria-prima para a produção de biogás. Este processo de DF da FORSU para produção de  $\text{bioH}_2$  foi estudado num outro trabalho de mestrado que decorreu em paralelo com a presente dissertação, tendo produzido o substrato do biorreator metanogénico estudado na presente dissertação.

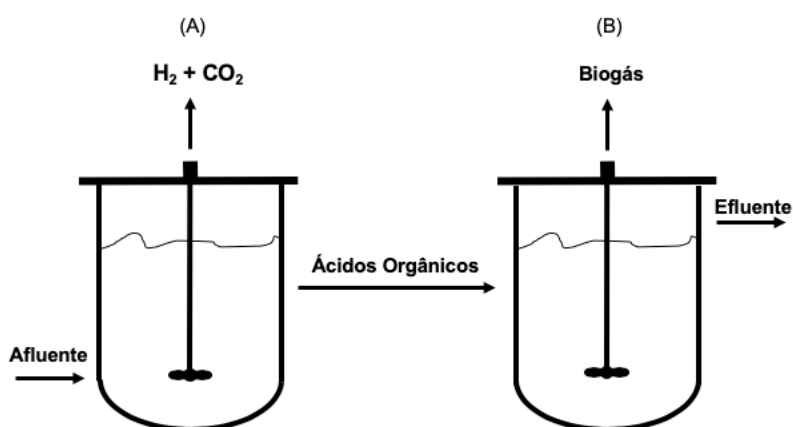


Figura 1.1. Esquema dos dois estágios utilizados para a produção de biogás: (A) biorreator de *dark fermentation* (estudado numa dissertação que decorreu em paralelo ao presente trabalho de mestrado); (B) biorreator metanogénico (estudado no presente trabalho de mestrado).

O biorreator de DF (figura 1.1A), alimentado com FORSU, em condições mesófilas, teve como objetivo a produção de bioH<sub>2</sub>. O efluente resultante deste processo, rico em AOVs, constituiu o afluente do biorreator metanogénico (figura 1.1B), estudado na presente dissertação, por forma a valorizar-se energeticamente os AOVs, em condições mesófilas, através da produção de biogás.

A combinação destes dois processos poderá eventualmente ter permitido aumentar o rendimento do processo de DA de FORSU, bem como a sua viabilidade económica, tal como sugere (Ghimire et al., 2015).

## 1.2. Resíduos Sólidos Urbanos

Os RSUs são constituídos por restos alimentares, papel, cartão, plástico, vidro, metais, madeira, têxteis e cinzas (Tozlu et al., 2016). De acordo com Hoornweg & Bhada-Tata (2012), a sua composição depende do nível de desenvolvimento económico, tradições culturais, localização geográfica e clima. A figura 1.1 ilustra a composição dos RSUs que foram produzidos em Portugal, em 2017.

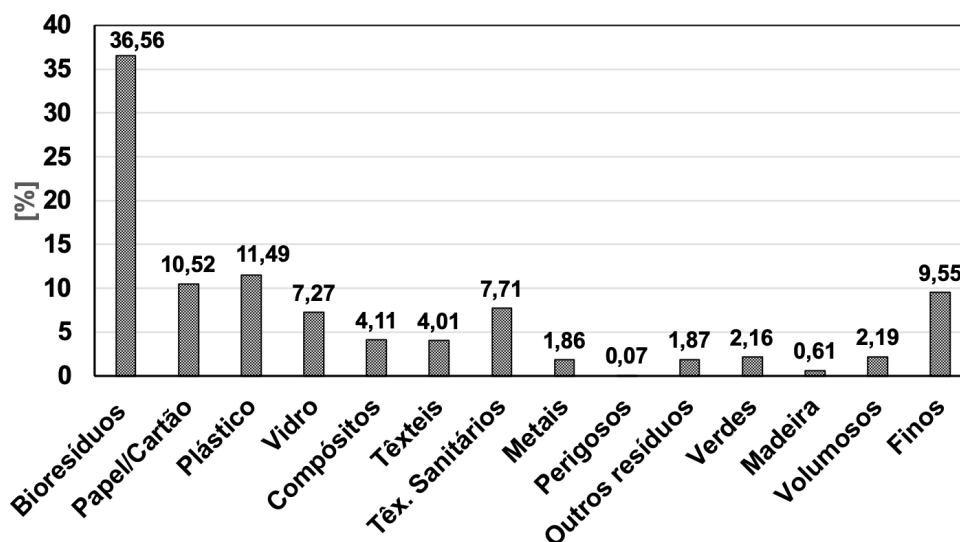


Figura 1.2. Caracterização física dos RSUs em Portugal, no ano de 2017 (APA, 2018).

O aumento da produção de RSUs, devido principalmente ao aumento do crescimento populacional, é considerado um dos maiores problemas ambientais e de perda de recursos. Atualmente, os sistemas de tratamento de resíduos apresentam dificuldades em lidar com as grandes quantidades de resíduos produzidos (Singh & Basak, 2018). De acordo com o Relatório Anual dos Resíduos Urbanos de 2017 (APA, 2018), em Portugal, no ano de 2017, foram produzidos cerca de 5 Mt de RSUs, das quais 54,7% foram enviados para aterros.

A FORSU resulta da separação mecânica da fração orgânica dos RSUs. Esta é composta maioritariamente por resíduos alimentares, entre outras frações, como é o caso dos resíduos verdes. Em 2017,



foram produzidas 1,83 Mt de FORSU, o que corresponde a 36,5% do total de RSU produzidos (APA, 2018).

A elevada disponibilidade da FORSU torna-a numa matéria-prima com um enorme potencial para a recuperação energética. A DA é considerada uma tecnologia alternativa aos atuais sistemas de tratamento de resíduos, capaz de converter a FORSU em energia renovável (Molino et al., 2013). Esta tecnologia, para além de permitir a recuperação energética, é considerada a mais eficiente na gestão de resíduos, reduzindo para 70% o volume de resíduos produzidos e contribuindo para a diminuição dos espaços necessários para a deposição de FORSU em aterros (Singh & Basak, 2018; Yap & Nixon, 2015).

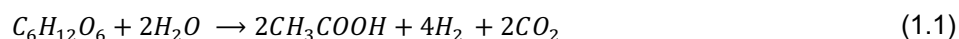
A utilização da DA para o tratamento destes resíduos contribui ainda para a mitigação das emissões a céu aberto (Singh & Basak, 2018), uma vez que a deposição destes resíduos em aterros origina a libertação de gases com efeito de estufa (GEE) (tabela 1.1).

Tabela 1.1. Emissões para a atmosfera (kg/t) (Adaptado de Singh & Basak, 2018).

Gases	Aterro sanitário	Digestão Anaeróbia
CO <sub>2</sub>	127	15
CH <sub>4</sub>	46,3	0,004
SO <sub>2</sub>	0,053	0,0017
NO <sub>x</sub>	0,68	0,046
CO	0,0078	0,011
H <sub>2</sub> S	0,11	0,00142

### 1.3. Ácidos Orgânicos Voláteis produzidos por *Dark Fermentation*

Os AOVs podem ser produzidos artificialmente, a partir de derivados de produtos petrolíferos, e biologicamente, através de processos fermentativos (Atasoy et al., 2018). A DF é um processo fermentativo de conversão microbiológica de matéria orgânica em biohidrogénio (bioH<sub>2</sub>) (Das et al., 2014). Durante este processo ocorre uma degradação de matéria orgânica complexa em substratos orgânicos mais simples. A produção de hidrogénio por DF, a partir de glucose, pode ser expressa pela reação (1.1) (Ghimire et al., 2015):



Uma vez que durante a DF a conversão da matéria orgânica é incompleta (Das, 2009), deste processo resulta ainda um produto final com um elevado conteúdo em AOVs, como são os casos do ácido acético, ácido butírico e ácido propanóico (Ghimire et al., 2015; Pierucci et al., 2017).

Estes AOVs são considerados uma boa matéria-prima para a produção de biogás através do processo de DA (Ghidotti et al., 2018). Estes servem como substratos para as bactérias metanogénicas responsáveis pela produção do biogás (Jiang et al., 2013). A valorização energética destes através do processo de DA contribui para o aumento da sustentabilidade ambiental da DF e da DA, uma vez que estes AOVs são considerados um recurso renovável (Atasoy et al., 2018).

#### **1.4. Digestão Anaeróbia**

A DA é um processo microbiológico de decomposição de matéria orgânica na ausência de oxigénio ( $O_2$ ) (Al Seadi et al., 2008). Neste processo, um complexo número de reações bioquímicas ocorre (Krishna & Kalamdhad, 2014) de forma sucessiva, sendo realizadas pelos vários tipos de microrganismos. Estes decompõem sucessivamente os substratos das reações anteriores, com o objetivo de produzir biogás, que maioritariamente é constituído por metano ( $CH_4$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (Al Seadi et al., 2008; Krishna & Kalamdhad, 2014). A quantidade e a qualidade do biogás produzido depende das características da matéria orgânica digerida, assim como das condições de operação do biorreator (Krishna & Kalamdhad, 2014; Yangyang Li et al., 2017).

Durante este processo é ainda produzido um outro tipo de subproduto para além da fração gasosa – o digerido. O digerido corresponde às frações sólida e líquida resultante do processo de DA (Xu et al., 2017) e é um subproduto que resulta das sucessivas decomposições que ocorrem ao longo do processo de DA. Este apresenta um valor energético menor que o biogás, uma vez que a energia contida nos substratos que são degradados ao longo das sucessivas decomposições é transferida para o biogás (Al Seadi et al., 2008). Embora se considere como um subproduto, o digerido é rico em nutrientes e, dada a sua estabilidade, o seu aproveitamento é visto com enorme potencial, nomeadamente, para o uso como corretivos orgânicos agrícolas (Krishna & Kalamdhad, 2014; Xu et al., 2017).

##### **1.4.1. Etapas da DA**

A DA resulta de um complexo número de interações metabólicas de diferentes grupos de microrganismos presentes no meio anaeróbio. De acordo com as funcionalidades destes microrganismos, o processo de DA pode ser descrito em quatro etapas: hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese (figura 1.3).

A **hidrólise** é a primeira etapa da DA e consiste num processo de decomposição da matéria orgânica mais complexa, em componentes mais simples e solúveis. Os lípidos, as proteínas e os polissacáridos são alguns exemplos de matéria orgânica complexa, inacessível aos microrganismos, que necessita de um processo de hidrólise biológica prévia, realizada no exterior das células (Meegoda et al., 2018). Neste processo de decomposição nem toda a matéria orgânica, dada a sua complexidade, se encontra disponível para ser assimilada pelos microrganismos presentes no meio (figura 1.3) (Meegoda et al., 2018; Soares et al., 2017).

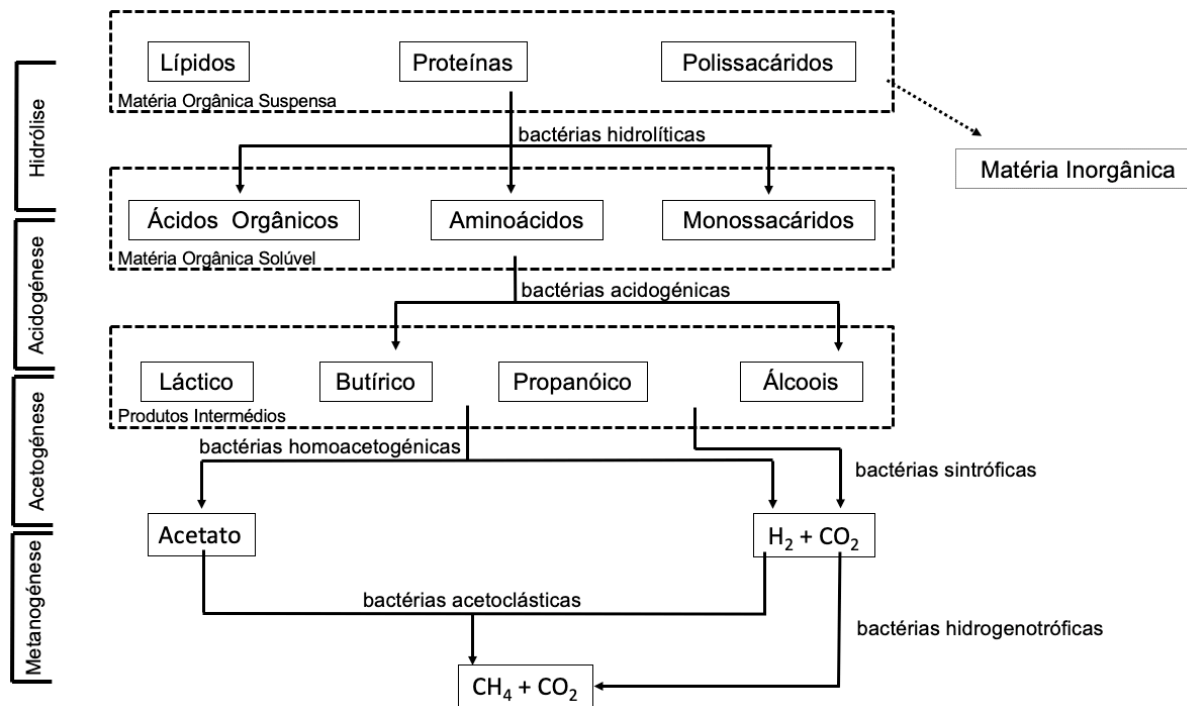
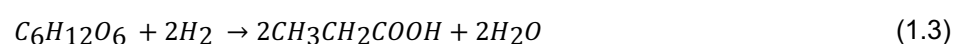
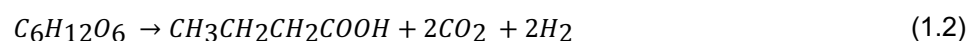


Figura 1.3. Esquema representativo das etapas que compõem a DA e das respetivas vias metabólicas (Adaptado de Lapa et al. (2018)).

A transformação que a matéria orgânica sofre de forma a que fique acessível aos microrganismos é efetuada por bactérias hidrolíticas, que segregam para o meio enzimas de forma a decompor a matéria orgânica presente no meio (Meegoda et al., 2018; Soares et al., 2017). Após terminado este processo, os produtos da hidrólise podem ser assimilados pelos microrganismos da acidogénese (etapa seguinte do processo).

A hidrólise determina a velocidade do processo de DA e depende da composição da matéria orgânica utilizada (Lapa et al., 2018).

Na **acidogénese** os produtos provenientes da hidrólise são transportados para o interior das células das bactérias acidogénicas, sendo transformados em produtos intermédios (figura 1.3) (Meegoda et al., 2018). Os AOVs mais comuns resultantes deste processo são o ácido butírico e o ácido propanóico. As reações de produção destes ácidos, a partir da glucose, são as que se apresentam nas equações (1.2) e (1.3), respetivamente:



É também comum surgirem álcoois (como é o caso do etanol), hidrogénio molecular ( $H_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ) nos produtos finais deste processo, embora em menores concentrações que os AOVs

(Lapa et al., 2018; Meegoda et al., 2018). De acordo com Lapa et al. (2018), a reação (1.4) é a reação de produção do etanol, a partir de glucose, que ocorre nesta etapa:



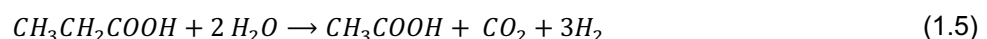
As concentrações dos diversos AOVs dependem das condições de operação do biorreator, pelo que se deve tentar operar o reator em condições que possam promover a formação de concentrações adequadas para a fase da acetogénese. A acidificação do biorreator surge em resultado das elevadas concentrações de AOVs, mas também como consequência da sua acumulação uma vez que a acidogénese é a etapa mais rápida de todo o processo de DA (Meegoda et al., 2018).

As bactérias acidogénicas desempenham ainda um importante papel para a estabilidade do processo de DA uma vez que uma restrita percentagem destas conseguem metabolizar a matéria orgânica por via oxidativa, usando o oxigénio eventualmente presente no biorreator. A assimilação da matéria orgânica, por esta via, promove a remoção dos resíduos de oxigénio no biorreator, evitando assim o seu efeito tóxico em alguns microrganismos estritamente anaeróbios, como é o caso dos microrganismos metanogénicos (Soares et al., 2017).

A acidogénese é a etapa mais rápida de todo o processo de DA uma vez que as bactérias acidogénicas tem a capacidade de se regenerar em 36h (Akunna, 2015; Meegoda et al., 2018).

A **acetogénese** é a terceira etapa do processo de DA. Esta etapa antecede a metanogénese e é muito importante para a otimização da fase seguinte da DA, uma vez que nem todos os produtos resultantes da etapa de acidogénese podem ser convertidos pelos microrganismos metanogénicos (Meegoda et al., 2018), como é o caso do ácido butírico e do ácido propanoico. Assim, estes produtos intermédios são convertidos nesta etapa em acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> (figura 1.3) (Soares et al., 2017).

De acordo com Lapa et al. (2018), a reação mais comum da conversão de ácido propanoico em ácido acético é a que se apresenta na equação (1.5):



O H<sub>2</sub> é produzido maioritariamente na acetogénese e resulta da ação de dois tipos de bactérias distintos presentes nesta etapa, as bactérias homoacetogénicas e as bactérias sintróficas. As primeiras produzem acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> a partir dos ácidos orgânicos formados anteriormente. As segundas produzem exclusivamente H<sub>2</sub> a partir dos mesmos compostos que as bactérias homoacetogénicas (Lapa et al., 2018).

A produção de H<sub>2</sub> aumenta a pressão parcial de H<sub>2</sub> no biorreator. Esta pressão quando é muito elevada pode inibir as bactérias sintróficas. As reações químicas em que estas bactérias participam são endotérmicas em condições normais de pressão (1 atm) e só se tornam exotérmicas para pressões de H<sub>2</sub> muito pequenas, inferiores a 10<sup>-4</sup> atm. Por outro lado, quando a pressão parcial de H<sub>2</sub> é muito baixa esta pode limitar a atividade das bactérias acetogénicas uma vez que a conversão do ácido propanoico em acetado é beneficiada originando a acumulação de ácido propanoico no biorreator e consequente instabilidade no processo (Ferreira, 2008). A remoção do hidrogénio do biorreator é feita pelas bactérias

metanogénicas na última etapa do processo de DA, fundamental para o equilíbrio do processo (Al Seadi et al., 2008; Meegoda et al., 2018).

A **metanogénese** é a última etapa do processo de DA. Nesta etapa, o acetado ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), o  $\text{CO}_2$  e o  $\text{H}_2$  (produtos da acetogénese) são convertidos em metano ( $\text{CH}_4$ ) e  $\text{CO}_2$  pela ação de bactérias metanogénicas que completam a cadeia de decomposição da matéria orgânica (figura 1.3) (Meegoda et al., 2018; Soares et al., 2017). Estas bactérias podem dividir-se em dois grupos: o primeiro grupo é composto pelas principais bactérias consumidoras de ácido acético e produtoras de metano (bactérias acetoclásticas) e o segundo grupo é constituído pelas bactérias que consomem o  $\text{H}_2$  (hidrogenotróficas) (Lapa et al., 2018; Soares et al., 2017).

As bactérias acetoclásticas são responsáveis pela produção de 70% de todo o  $\text{CH}_4$  produzido nesta etapa, através da remoção do ácido acético. A acumulação do ácido acético no biorreator provoca a sua acidificação e, por este motivo, estas bactérias são fundamentais para a manutenção da estabilidade do processo (Soares et al., 2017). Estas bactérias usam o acetato como fonte de energia e como fonte de carbono para a produção de metano. De acordo com Soares et al. (2017), a reação (1.6) descreve o processo de produção de metano realizado por este tipo de bactérias:



As bactérias hidrogenotróficas, por outro lado, produzem metano a partir do dióxido de carbono e hidrogénio. Estas bactérias têm uma menor contribuição para a produção de metano devido às reduzidas quantidades de hidrogénio disponíveis no biorreator. A produção de metano, por este tipo de bactérias, pode ser descrita pela reação (1.7) (Lapa et al., 2018; Soares et al., 2017):



De salientar que estas bactérias usam o  $\text{CO}_2$  como fonte de carbono e o  $\text{H}_2$  como fonte de energia, sendo fundamental o seu papel na remoção de hidrogénio do biorreator, não permitindo que o excesso de hidrogénio iniba a acetogénese (Al Seadi et al., 2008; Meegoda et al., 2018; Soares et al., 2017).

Esta etapa é fortemente influenciada pela composição da matéria orgânica e pelas condições de operação do biorreator.

Os microrganismos metanogénicos são sensíveis a qualquer alteração das condições ambientais do meio em que vivem. Por outro lado, são os microrganismos com as menores taxas de crescimento, apresentando tempos de duplicação muito superiores aos restantes microrganismos presentes no biorreator (tabela 1.2) (Al Seadi et al., 2008; Meegoda et al., 2018).

A metanogénese é considerada a etapa mais lenta de todo o processo de DA.

Tabela 1.2. Tempo de duplicação dos diferentes microrganismos da DA (Adaptado de Akunna, 2015).

<b>Microrganismos</b>	<b>Tempo de Duplicação</b>
Bactérias acidogénicas	<36 h
Bactérias acetogénicas	80-90 h
Bactérias metanogénicas	10-16 dias

Na presente dissertação pretende-se otimizar a quarta e última etapa do processo de DA, a metanogénese. Nesta etapa, foi utilizado um substrato rico em AOVs proveniente de um biorreator de *dark fermentation* para a produção de biogás. As primeiras três fases do processo de DA, (hidrólise, acidogénese e acetogénese) foram realizadas no biorreator, descrito anteriormente, com o objetivo de estudar a produção de bioH<sub>2</sub>, a partir da FORSU. Este estudo foi realizado num outro trabalho de mestrado que decorreu em paralelo com a presente dissertação.

#### **1.4.2. Parâmetros que condicionam a Metanogénese**

A produção de biogás a partir de AOVs proveniente de um biorreator de *dark fermentation* por metanogénese é um processo complexo e dinâmico que resulta da permanente interação entre os microrganismos e o substrato, bem como das condições físicas e químicas do meio onde o processo biológico se desenrola.

Assim, de modo a alcançar-se uma maior eficiência de produção de biogás, foi necessário ter em atenção alguns parâmetros que influenciam a estabilidade da metanogénese, tais como, temperatura, pH, nutrientes, razão C:N, presença de inibidores, carga orgânica aplicada, tempo de retenção hidráulico e agitação.

##### **1.4.2.1. Temperatura**

A temperatura é um dos parâmetros cruciais na metanogénese. É essencial manter-se a temperatura constante de forma a tornar o processo mais estável, condição necessária, para uma produção de biogás contínua (Kim et al., 2017; Siddique & Wahid, 2018). Segundo Siddique & Wahid (2018), existem três gamas de temperatura possíveis de operação de um biorreator metanogénico: gamas psicrófila, mesófila e termófila. Tal como se apresenta na figura 1.4, a taxa de degradação dos substratos orgânicos varia consideravelmente em cada uma destas gamas de temperatura.

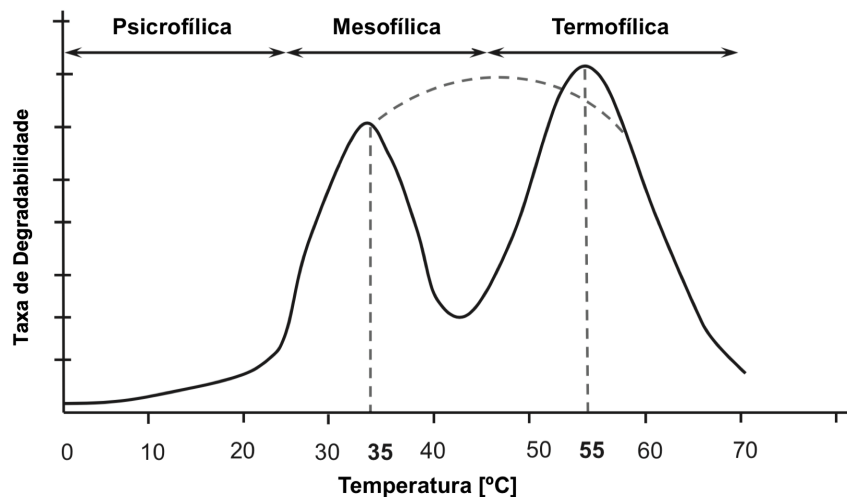


Figura 1.4. Taxa de degradabilidade dos substratos orgânicos em função da temperatura de operação do biorreator metanogénico (Adaptado de Akunna, 2015).

A operação de um biorreator metanogénico apresenta diferentes comportamentos consoante a gama de temperatura a que este opera, sendo mais comum as gamas mesofílica e termofílica. A gama mesofílica, de acordo com Akunna (2015), compreende temperaturas entre os 25-45 °C. Nesta gama é de esperar um menor consumo de energia, uma população microbiológica diversificada e uma maior resiliência à presença de inibidores contidos na matéria-prima. Nesta gama de operação, a produção de biogás é contínua e estável (Kim et al., 2017).

A gama termofílica compreende temperaturas entre os 45-70 °C (Akunna, 2015). Esta gama de operação permite a aplicação de maiores cargas orgânicas ao biorreator metanogénico assim como menores tempos de retenção hidráulica, uma vez que a temperatura mais elevada promove o aumento da velocidade das reações, principalmente na hidrólise. Nesta gama de operação são expectáveis maiores produções de biogás, assim como uma melhor qualidade do biogás produzido, i.e. com maior teor de CH<sub>4</sub> (Gebreyessus & Jenicek, 2016).

O controlo e a monitorização da temperatura pode evitar alterações que afetam a comunidade dos microrganismos presentes no biorreator metanogénico, uma vez que a temperatura afeta a velocidade das reações bioquímicas (Lapa et al., 2018).

#### 1.4.2.2. pH

O pH é um parâmetro indicador do ambiente favorável aos diferentes microrganismos presentes no interior do biorreator. Os diferentes microrganismos necessitam de diferentes condições de pH: os microrganismos responsáveis pela acidogénese requerem uma gama de valores para este parâmetro distinta dos microrganismos responsáveis pela metanogénese (tabela 1.3) (Siddique & Wahid, 2018).

Tabela 1.3. Valores de pH que favorecem diferentes microrganismos presentes num reator de DA.

<b>Microrganismos</b>	<b>pH</b>	<b>Referência</b>
Bactérias acidogénicas	5,5-6,5	(Mao et al., 2015)
Bactérias metanogénicas	6,8-7,4	(Mao et al., 2015)

Segundo Mao et al. (2015), a taxa de crescimento e a atividade das bactérias metanogénicas, bem como a produção de metano são favorecidas para valores de pH entre 6,8-7,4. Os microrganismos que constituem o processo bioquímico da metanogénese são extremamente sensíveis a variações de pH e, por esta razão, é essencial a monitorização do pH, de modo a garantir-se que o processo é o mais estável possível, em torno da neutralidade. Através da alcalinidade do meio é possível aferir-se que microrganismos contidos no interior do biorreator metanogénico estão a ser favorecidos, bem como presumir os produtos maioritariamente formados (Akunna, 2015; Khan et al., 2016).

A metanogénese é um processo altamente complexo, dinâmico e suscetível a variações de pH. Algumas estratégias que podem ser adotadas para a correção destas variações são:

- i. Alterar o regime de alimentação – Alterar ou em alguns casos parar a alimentação pode ser suficiente para que as bactérias metanogénicas tenham tempo suficiente para absorver os AOVs acumulados no biorreator. A acumulação dos AOVs está associada à acidificação do biorreator (Ma et al., 2016);
- ii. Adicionar uma base ao afluente – A adição de uma base ao afluente é uma estratégia muitas vezes utilizada para se aumentar o valor de pH do biorreator, embora esta estratégia implique custos acrescidos no balanço económico final do processo (Ma et al., 2016);
- iii. Recirculação do efluente – A recirculação do efluente podem ser outra forma de se manter a estabilidade do pH (YuQian Li et al., 2018)

#### 1.4.2.3. Macro e Micronutrientes

Os nutrientes que se encontram presentes no substrato são condição necessária para a ativação dos diversos microrganismos que constituem a metanogénese. Os nutrientes que compõem a matéria orgânica podem ser divididos em macronutrientes e micronutrientes. O carbono (C), o azoto (N), o fosforo (P) e o enxofre (S) são exemplos de macronutrientes essenciais aos microrganismos que compõem a metanogénese. A composição ótima teórica, em macronutrientes C:N:P:S, para a metanogénese é de 500:15:5:3 (Akunna, 2015).

O carbono e o azoto são nutrientes essenciais para o crescimento das células (Lapa et al., 2018). A razão C:N é usada como indicador da disponibilidade dos macronutrientes C e N, devendo estar compreendida entre 20-30:1 para que o processo de metanogénese seja estável (Akunna, 2015).



Para baixas razões C:N, o risco de inibição por amónia aumenta, condicionando o crescimento dos microrganismos metanogénicos; por este motivo, deve-se adicionar um substrato rico em carbono de forma a aumentar esta razão. Para razões C:N elevadas, o substrato é rico em carbono, podendo favorecer a acumulação de AOVs, devendo-se adicionar um substrato rico em azoto de forma a diminuir esta razão. (Siddique & Wahid, 2018).

Os micronutrientes, como o ferro (Fe), o cobalto (Co), o níquel (Ni) e o zinco (Zn), quando presentes em pequenas concentrações no substrato podem intensificar o crescimento dos microrganismos assim como estimular a atividade metanogénica com consequente aumento da produção de biogás (tabela 1.4) (Akunna, 2015; Lapa et al., 2018).

Tabela 1.4. Concentrações de micronutrientes que podem estimular a produção de biogás (Adaptado de Mao et al., 2015).

<b>Elemento</b>	<b>Concentração</b>
Fe	1-5 g/L
Co	0,029-5 mg/L
Ni	0,029-27 mg/L
Zn	0,033-2 mg/L

#### 1.4.2.4. Inibidores

A matéria orgânica é composta por um conjunto muito vasto de elementos químicos e alguns deles são tidos como substâncias que inibem a metanogénese (Akunna, 2015). O controlo e remoção destas substâncias implicam sempre um custo acrescido, podendo afetar negativamente o balanço económico do processo (Ma et al., 2016). O amoníaco, os sulfuretos, os AOVs, os sais e os metais pesados são considerados inibidores da metanogénese. O amoníaco e os AOVs destacam-se como os causadores de inibição mais comuns.

O amoníaco é um nutriente essencial para os microrganismos metanogénicos uma vez que estimula o seu crescimento assim como aumenta a capacidade destes microrganismos de resistirem a alterações de pH do meio. Contudo, em elevadas concentrações pode inibir o crescimento dos microrganismos causando instabilidade da atividade metanogénica (tabela 1.5) (Rajagopal et al., 2013). A degradação da matéria orgânica que contém azoto origina a formação de amoníaco. Este pode ser libertado sob a forma de amoníaco livre ( $\text{NH}_3$ ) ou na forma do ião amónio ( $\text{NH}_4^+$ ). O amoníaco livre tem a capacidade de passar a membrana das células e por este motivo é mais tóxico para os microrganismos do que o ião amónio. Para além disso, o ião amónio pode reagir com o  $\text{CO}_2$  e formar bicarbonato, aumentando a resistência do biorreator a alterações de pH (Ma et al., 2016).

Tabela 1.5. Concentrações inibidoras de azoto amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (Rajagopal et al., 2013).

<b>Concentração (mg N/L)</b>	<b>Consequência</b>	<b>Referência</b>
<500	As bactérias acetoclásticas perdem atividade	(Procházka et al., 2012)
>3000	Processo inibido	(Mccarty, 1964)
	Toxicidade irreversível	(Hobson & Shaw, 1976)
>4000	Inibição da atividade metanogénica	(Sung & Liu, 2003)
		(Procházka et al., 2012)
>6000	Processo inibido	(Lauterbock et al., 2012)

Os AOVs são produtos intermédios resultantes da degradação da matéria orgânica pelas bactérias fermentativas. No decorrer do processo de DA, quando as etapas fermentativas são privilegiadas em relação a metanogénese, ou seja, quando a atividade das bactérias fermentativas é superior a atividade das bactérias metanogénicas surge a acumulação de AOVs. A acumulação de AOVs origina a acidificação do meio, levando à inibição da atividade das bactérias metanogénicas e consequente diminuição da produção de biogás (Khan et al., 2016; Mao et al., 2015). A estabilidade de um biorreator metanogénico pode ser avaliada tendo em consideração a concentração individual dos diferentes AOVs (tabela 1.6).

Tabela 1.6. Concentrações de AOVs para diferentes níveis de estabilidade (Adaptado de Drogg, 2013).

<b>AOVs</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>Consequência</b>
Ácido acético	<1000	Processo estável
	1000-4000	Provável instabilidade
	>4000	Processo instável
Ácido butírico	<50	Processo estável
	≥ 50	Provável instabilidade
Ácido propanóico	< 250	Processo estável
	250-1000	Provável instabilidade
	>1000	Processo instável

Segundo Drosig (2013), a estabilidade do processo de DA pode ainda ser avaliada pela razão Ácido propanóico:Ácido acético. Se esta razão for superior a 1,4:1, o processo é considerado instável.

#### 1.4.2.5. Tempo de Retenção Hidráulico

O tempo de retenção hidráulico é o parâmetro que descreve o tempo médio de permanência do substrato no interior do biorreator em contacto com a população bacteriana. Este parâmetro pode ser calculado pela equação (1.9) (Liu et al., 2018):

$$TRH = \frac{V_r}{Q_{in}} \quad (1.9)$$

Onde,

$TRH$  – Tempo de retenção hidráulico (d);

$V_r$  – Volume do biorreator (L);

$Q_{in}$  – Caudal do afluente (L/d).

A seleção do TRH deve ter em consideração a matéria-prima usada para alimentar o biorreator metanogénico, visto que a taxa de degradação da matéria orgânica depende da sua composição (figura 1.9).

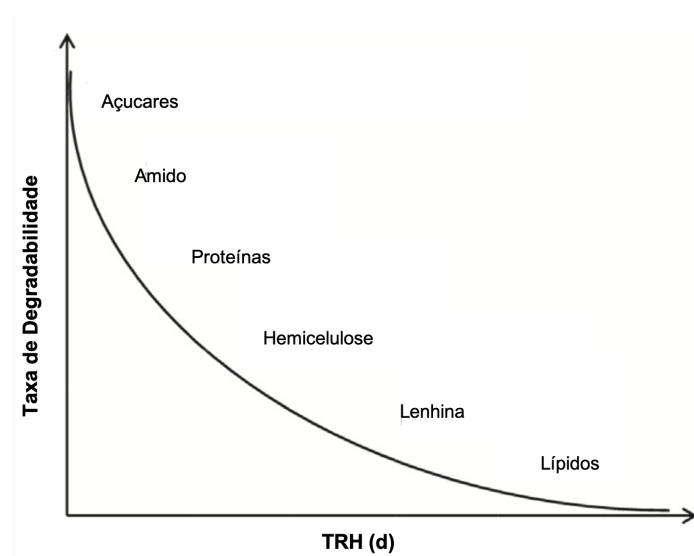


Figura 1.5. TRH em função da composição da matéria orgânica (Adaptado de Akunna, 2015)

A matéria orgânica composta por elementos de elevada complexidade deve estar sujeita a TRH longos, por forma a permitir melhores decomposições dos compostos complexos (Liu et al., 2018). Desta forma, é assegurado que os microrganismos conseguem assimilar a matéria orgânica aumentando a sua atividade e como consequência, aumentando o biogás produzido (Shi et al., 2017). Por outro lado, a matéria orgânica composta por elementos que se encontrem aptos a ser rapidamente assimilados pelos microrganismos deve ser sujeita a TRH curtos. De salientar que TRH mais curtos pode levar à

eliminação do inóculo do biorreator antes da duplicação das células microbianas (*washout*), com a consequente diminuição da produção de biogás (Khan et al., 2016; Siddique & Wahid, 2018).

Segundo Dareioti & Kornaros (2014), deve-se optar por um TRH entre 20-25 dias para substratos ricos em ácidos orgânicos, como por exemplo os AOVs provenientes da DF. TRH inferiores a 20 dias podem originar instabilidade no processo devido à acumulação destes no biorreator.

#### 1.4.2.6. Carga Orgânica Aplicada

A carga orgânica aplicada representa a quantidade de massa de substrato que é introduzida no biorreator, por unidade de tempo e por unidade de volume, em alimentação contínua ou intermitente (Mao et al., 2015; Siddique & Wahid, 2018). A carga orgânica aplicada pode ser calculada de acordo com a equação (1.8) (Lapa et al., 2018):

$$COA = C_{in} \times \frac{Q_{in}}{V_r} = \frac{C_{in}}{TRH} \quad (1.8)$$

Onde,

$COA$  – Carga orgânica aplicada (g SV/L.d ou g  $O_2$ /L.d);

$C_{in}$  – Concentração de matéria orgânica no substrato (g SV/L ou g  $O_2$ /L.d);

$Q_{in}$  – Caudal diário do afluente (L/d);

$V_r$  – Volume do biorreator (L);

$TRH$  – Tempo de Retenção Hidráulico (d).

A equação (1.8) representa a taxa de matéria orgânica que o reator recebe diariamente. Esta depende das características da matéria-prima usada como alimento e do caudal de alimentação do biorreator (Khan et al., 2016; Melville et al., 2014).

Se a matéria-prima usada contiver uma carga diminuta, os microrganismos presentes no biorreator não terão disponível os nutrientes necessários para manter a sua atividade, como consequência, a produção de biogás diminuirá. Por outro lado, a aplicação de cargas orgânicas excessivas poderá levar à acumulação de AOVs e consequentemente perturbar a estabilidade da metanogénese (Siddique & Wahid, 2018).

#### 1.4.2.7. Agitação

A agitação é o parâmetro de operação que melhor favorece a eficiência de remoção dos nutrientes da matéria orgânica pelos microrganismos presentes no biorreator metanogénico. Este parâmetro promove um melhor contacto entre o alimento, nutrientes presentes no afluente e inóculo no biorreator (Appels et al., 2008).

Elevadas velocidades de agitação diminuem a capacidade que os microrganismos têm em assimilar a matéria orgânica, o que pode levar a que parte desta matéria orgânica saia do biorreator sem que tenha sido assimilada pelos microrganismos (Gould, 2015).

De acordo com Melville et al. (2014) os benefícios da agitação são:

- Homogeneização da matéria orgânica;
- Promoção de um melhor contacto entre a matéria orgânica e os microrganismos;
- Eliminação de zonas de elevada concentração de matéria orgânica, bem como de zonas mortas.

A agitação promove ainda a uniformização da temperatura dentro do biorreator (Appels et al., 2008).

### 1.5. Biogás como principal produto da metanogénese

O biogás é o principal produto da metanogénese (Enzmann et al., 2018). Este é considerado uma energia renovável, quando produzido a partir da matéria orgânica como é o caso dos resíduos agrícolas, lamas de estações de tratamento de águas residuais, águas residuais industriais e resíduos sólidos urbanos. A sua composição depende das características da matéria-prima e da tecnologia utilizada. Este é constituído, maioritariamente, por CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e por outros elementos em menores concentrações (tabela 1.7) (He & Liu, 2018).

Tabela 1.7. Composição do biogás (Akunna, 2015; Al Seadi et al., 2008).

Elementos	CH <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> S
Teor (% v/v)	50-75	25-45	0,1-2	0-10	0,01-5	<1	0,01-3

A energia contida no biogás provém do CH<sub>4</sub>, constituinte maioritário. Algumas propriedades do CH<sub>4</sub> são apresentadas na tabela 1.8.

Tabela 1.8. Propriedades físicas e químicas do metano (Oliveira, 2009).

Peso molecular	16,04 u.m.a
Ponto de ebulição	-161,5 °C
Ponto de congelamento	-182,5 °C
Pressão crítica	45 atm
Temperatura crítica	-82,5 °C
Densidade	0,718 kg/m <sup>3</sup>
PCI	8,5 kcal/m <sup>3</sup>
Temperatura de ignição	650 °C
Velocidade da chama	0,40 m/s

O conteúdo energético do biogás depende da sua concentração em CH<sub>4</sub>. Este apresenta na sua composição menos 30-40% v/v de metano que o gás natural (Labatut, 2018). O Poder Calorífico do biogás em comparação a alguns combustíveis é apresentado na tabela 1.9.

Tabela 1.9. Poder calorífico de vários combustíveis em comparação com o biogás (Abbasi et al., 2012).

<b>Tipo de Combustível</b>	<b>Poder Calorífico Inferior (kWh/Kg)</b>
Gás Natural	10
Diesel	12
Gasolina	12
Biogás	5,8

O biogás é considerado um combustível versátil que pode ser utilizado em diversas aplicações. Este pode ser utilizado para a produção de calor, de energia elétrica, como substituo do gás natural ao ser injetado na rede de gás natural e ainda como combustível para veículos.

A produção de calor requer a utilização do biogás em caldeiras a gás ou queimadores. Este biogás não necessita de um processo de *upgrading* devendo apenas passar por um processo de remoção da humidade. e em alguns casos de dessulfurização (> 1000 ppm v/v) (tabela 1.9)(Waldron, 2014).

A utilização do biogás em aplicações como a produção de energia elétrica, injeção na rede de gás natural, utilização como combustíveis para veículos e em células de combustível exige que o biogás sofra um processo de upgrading de forma a aumentar a concentração de metano em (> 97% v/v) (Lapa et al., 2018). Este deve também ser sujeito a um processo de remoção da humidade e dessulfurização de forma a evitar a degradação/corrosão dos equipamentos (tabela 1.10) (Enzmann et al., 2018).

Tabela 1.10. Remoção de componentes do biogás em função da sua utilização (Waldron, 2014).

<b>Aplicação</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b>	<b>CO<sub>2</sub></b>	<b>H<sub>2</sub>O</b>
Caldeira a gás	<1000 ppm	Não remoção	Não remoção
Cogeração	<1000 ppm	Não remoção	Não remoção
Combustível para veículos	Remoção	Remoção	Remoção
Injeção na rede de gás natural	Remoção	Remoção	Remoção

A conversão do biogás em energia elétrica pode ser feita através das seguintes tecnologias: -motores de combustão; -cogeração; -turbinas a gás; -microturbinas e células de combustível. A eficiência de conversão do biogás em energia elétrica nos motores de combustão varia entre 22-45%. Já as turbinas a gás apresentam eficiências de conversão que variam entre 22-36%, sendo esta a tecnologia com menor custo de investimento e manutenção. As microturbinas apresentam eficiências de conversão semelhantes às turbinas a gás, sendo que o custo desta tecnologia e a sua manutenção são mais elevados. Na cogeração, 70% da energia do biogás é convertida em calor e o restante em energia elétrica. A aplicação do biogás para produção de células de combustíveis é a tecnologia mais eficiente de conversão da energia do biogás em energia eletroquímica, apresentando uma eficiência que varia entre 40-60%. Esta tecnologia apresenta elevados custos de produção e manutenção comparativamente as restantes tecnologias. O biogás pode ainda ser utilizado como substituto do gás natural ao ser injetado na rede de gás natural ou utilizado como combustível no setor dos transportes (Labatut, 2018). Este deve ser comprimido de modo a facilitar o seu transporte e armazenamento. A tabela 1.11 apresenta a equivalência energética entre 1 m<sup>3</sup> de biogás e os restantes combustíveis utilizados no setor dos transportes.

Tabela 1.11. Equivalência energética entre 1 m<sup>3</sup> de biogás e outros combustíveis (Oliveira, 2009).

<b>Combustível</b>	<b>Equivalência</b>
Gasolina (L)	0,61
Diesel (L)	0,55
GLP (kg)	0,45
Energia Elétrica (kWh)	1,43

A produção de biogás tem ganho interesse nos últimos anos devido à sua viabilidade, por possibilitar uma geração contínua de energia permitindo satisfazer a procura do mercado energético, mas também por possibilitar a valorização energética de resíduos, permitindo a redução de custos com o tratamento destes e evitando a sua deposição em aterros (tabela 1.12) (Mao et al., 2015).

O futuro da produção de biogás passa pelo setor agrícola. A produção de biogás neste setor está a crescer muito rapidamente na Europa. Os resíduos gerados por este setor são considerados uma fonte de energia renovável e com um enorme potencial económico associado ao seu aproveitamento. A produção de biogás no setor agrícola permite a substituição dos combustíveis fósseis utilizados neste setor como combustíveis, diminuindo assim as emissões de GEE associados à sua utilização. Os benefícios económicos e ambientais da produção de biogás no setor agrícola tem aumentado o interesse na produção deste combustível (Weiland, 2010).

Tabela 1.12. Vantagens do biogás produzido por DA (Adaptado de Mao et al., 2015).

<b>Tipo de vantagem</b>	<b>Vantagens</b>
Energética	Produção de energia elétrica Produção de calor Injeção na rede de gás natural Combustível para veículos
Ambiental	Redução de resíduos orgânicos Valorização energética de resíduos Redução de emissões de GEE Mitigação do aquecimento global Energia renovável Redução da dependência dos combustíveis fósseis
Social	Promove a independência energética Promove a criação de empregos

### 1.6. Estado de Arte

A primeira ideia de produção combinada de hidrogénio e metano, a partir de biomassa, foi proposta em 1998 por John Benemann (Benemann, 1998), mas só mais recentemente, a partir de 2016, começaram a surgir os primeiros estudos que denominam o primeiro estágio de produção de biohidrogénio como *dark fermentation*, e o segundo estágio de produção de biogás como metanogénese.

Cheng et al. (2016) estudaram a produção de biohidrogénio e biogás, num sistema de dois estágios (*dark fermentation* e metanogénese), a partir de FORSU, de lamas de esgoto e a combinação destes dois substratos com diferentes proporções. Este estudo decorreu em reatores do tipo *batch* e em condições mesofílicas. Neste estudo, o pH ácido do efluente do primeiro estágio foi ajustado até um valor de 8,0 com recurso à adição de NaOH (6M) antes de ser utilizado como afluente do segundo estágio. No mesmo ano, Voelklein et al. (2016) estudou a produção de biohidrogénio e biogás em dois reatores CSTR em condições mesofílicas, sendo que estudado um TRH de, 4 dias no primeiro estágio e 12 dias no segundo estágio.

De Gioannis et al. (2017) estudaram os benefícios da recuperação energética através de um processo de produção de biohidrogénio e biogás em dois estágios. Neste estudo foi utilizado um substrato orgânico sintético de FORSU como afluente no primeiro estágio (*dark fermentation*). O efluente do primeiro estágio foi posteriormente utilizado como afluente do segundo estágio (metanogénese). Os ensaios



experimentais foram conduzidos em reatores *batch*, em condições mesófilicas (39 °C), com uma razão inóculo/substrato, no primeiro e segundo estágio, de 2 g SV<sub>inóculo</sub>/g SV<sub>substrato</sub> e 0,14 g SV<sub>inóculo</sub>/g SV<sub>substrato</sub>.

Nos últimos dois anos, o número de trabalhos publicados com o estudo do sistema combinado (*dark fermentation* e metanogénese) de produção de biohidrogénio e biogás aumentou significativamente, principalmente, devido ao aumento do interesse em produzir biohidrogénio.

Salem et al. (2018) estudou o efeito de três métodos diferentes de pré-tratamento (alcalino, ácido e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) da FORSU na produção de biohidrogénio e biogás. O estudo foi realizado em dois reatores que operaram em condições mesófilicas. No estágio da *dark fermentation* foi utilizado dois reatores CSTR com um TRH de 24h enquanto no estágio da metanogénese foi utilizado dois reatores de fluxo ascendente com um TRH de 13,6 e 12,1 dias.

Algapani et al. (2018) estudaram a produção contínua de biohidrogénio e biogás, a partir de resíduos alimentares de uma cantina de Beijing, num sistema de dois estágios constituído por dois reatores CSTR. O primeiro reator operou, em condições mesófilas (55 °C), com um TRH de 5 dias e uma carga volúmica aplicada de 16,3 kg SV/(m<sup>3</sup>·d). Já o segundo reator foi operado, em condições mesófilicas (35 °C), com diferentes TRH, 30, 20, 15, 12 e 8 dias com as respetivas cargas volúmicas aplicadas de 2,2 kg SV/(m<sup>3</sup>·d), 2,9 kg SV/(m<sup>3</sup>·d), 3,2 kg SV/(m<sup>3</sup>·d), 4,1 kg SV/(m<sup>3</sup>·d) e 5,6 kg SV/(m<sup>3</sup>·d).

Wu et al. (2018) estudou o efeito da recirculação do digerido num sistema de dois estágios (*dark fermentation* e metanogénese), a partir de FORSU, para a produção de biohidrogénio e biogás. Este estudo decorreu em dois reatores CSTR, em condições mesófilicas (37 °C). No estágio da *dark fermentation* (primeiro reator) foi aplicado um TRH de 4 dias e uma carga orgânica volúmica de 2 kg SV/(m<sup>3</sup>·d). O afluente deste estágio era composto por uma mistura entre a FORSU e parte do efluente do estágio da metanogénese, o digerido (razão 3:1). Já o segundo reator operou com um TRH de 25 dias e uma carga orgânica volúmica de 6 kg SV/(m<sup>3</sup>·d).

Por fim, Algapani et al. (2019) reportaram o efeito da recirculação do digerido na produção de biohidrogénio e biogás, a partir de resíduos alimentares de uma cantina de Beijing, num sistema de dois estágios. Os ensaios experimentais foram conduzidos em dois reatores CSTR em diferentes condições de operação. O primeiro reator (reator de *dark fermentation*) foi operado em condições termófilicas (55 °C), com um TRH de 5 dias e uma carga volúmica de 15 kg SV/(m<sup>3</sup>·d). O segundo reator (reator metanogénico) operou com um TRH de 5 3 15 dias e uma carga volúmica de 18 kg SV/(m<sup>3</sup>·d) e 3,2 kg SV/(m<sup>3</sup>·d) respetivamente, em condições mesófilicas (35 °C).

### 1.7. Objetivos e Caráter Inovador

A presente dissertação tem como objetivo avaliar as diferenças nos rendimentos de produção de biogás e metano, através de um processo de metanogénese, quando o biorreator é alimentado com a Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos (FORSU) e quando é alimentado com Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs) produzidos num biorreator de *dark fermentation*, a partir de FORSU.

Os objetivos específicos da presente dissertação foram:

- Comparar quantidade e qualidade de biogás produzido quando o biorreator metanogénico foi alimentado com FORSU e com diferentes cargas de AOVs produzidos por *dark fermentation*;
- Comparar o desempenho da metanogénese e estabilidade de conversão do substrato em biogás produzido quando o biorreator metanogénico foi alimentado com FORSU e com diferentes cargas de AOVs produzidos por *dark fermentation*.

O carácter inovador da presente dissertação reside na valorização energética de AOVs, produzidos num bioerreator de *dark fermentation*, para a produção de biogás, em condições mesofílicas, num biorreator em mistura completa.

O presente estudo foi apresentado numa conferência internacional, com a seguinte referência:

D. Salvaterra, E. Surra, N. Lapa (2019). *Biogas production from food wastes or volatile fatty acids: What's the best?*, 5th International Conference Wastes: Solutions, Treatments and Opportunities, September 4th-6th, 2019, Lisbon, Portugal.

# 2

## Materiais e Métodos

A atividade laboratorial descrita neste capítulo decorreu no período compreendido entre janeiro e julho de 2019, nos laboratórios de ensaios biológicos do LAQV-REQUIMTE, do Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa (DCTB). Neste período, foram realizados ensaios de DA com FORSU e com AOVs provenientes de um biorreator de *dark fermentation*. Em cada ensaio procedeu-se à caracterização dos afluentes e efluentes do biorreator, assim como à quantificação e caracterização do biogás produzido.

### 2.1. Substratos Orgânicos

Numa primeira fase, o biorreator anaeróbio foi alimentado com FORSU (figura 2.1A) proveniente da Estação de Tratamento e Valorização Orgânica (ETVO) da Valorsul, localizada no concelho da Amadora, distrito de Lisboa (Portugal). A FORSU rececionada nas instalações da ETVO é constituída por resíduos alimentares de cantinas, restaurantes e mercados recolhidos na área metropolitana de Lisboa (região norte).

Posteriormente, numa segunda fase, o biorreator anaeróbio foi alimentado com AOVs provenientes de um biorreator de *dark fermentation* (figura 2.1B). Os AOVs estavam presentes em elevadas concentrações no efluente deste biorreator. Este biorreator estava a ser alimentado com a FORSU, descrita anteriormente, para a produção de biohidrogénio (outra dissertação de mestrado em curso paralelamente à presente dissertação).

A colheita das amostras de FORSU foi efetuada nas instalações da ETVO - Valorsul e ocorreu depois destas terem sido submetidas a um pré-tratamento físico (linha de secos) de remoção de contaminantes (como é o caso dos plásticos, vidros, metais e outros materiais inorgânicos) e antes do sistema de bombagem a montante do tanque de hidrólise. As amostras foram armazenadas em garrações de vidro (*Schott*) de 2 L e posteriormente transportadas em malas térmicas refrigeradas (4°C), por forma a evitar a degradação biológica a que estas amostras possam estar sujeitas.

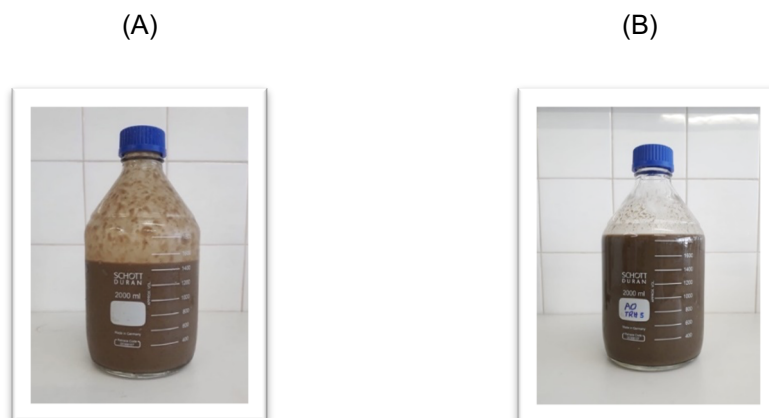


Figura 2.1. Amostras dos substratos orgânicos utilizados. (A) Amostra de FORSU; (B) Amostra do efluente do biorreator de *dark fermentation* rico em AOVs.

As amostras de FORSU recolhidas, antes de serem acondicionadas em garrações de vidro (*Schott*) de 2 L (figura 2.1A) e conservadas num frigorífico, a uma temperatura de 4 °C, foram crivadas num crivo (*Retsch*), com 2 mm de malha, por forma a remover contaminantes indesejados ainda presentes, como é o caso de plásticos, vidros e cerâmicas. A crivagem das amostras permite ainda evitar o entupimento das tubagens de alimentação do biorreator.

O efluente do biorreator de *dark fermentation* foi recolhido e armazenado em garrações de vidro (*Schott*) de 2 L (figura 2.1B) para que pudesse ser conservado num frigorífico, a uma temperatura de 4 °C, de forma a evitar ao máximo a sua degradação biológica. Desta forma, garantiu-se que este efluente, rico em AOVs, poderia ser utilizado nos ensaios experimentais de DA realizados no presente trabalho.

## 2.2. Unidade Laboratorial e Condições de Operação

Os ensaios de DA foram realizados num biorreator anaeróbio, de mistura completa, constituído por um recipiente cilíndrico de acrílico, com um volume de 2,75 L, rodeado por uma serpentina de aquecimento e isolado com fibra de vidro. No seu topo encontrava-se instalado um termopar (*Hanna Instruments*, modelo HI 9053). Na figura 2.2 encontra-se ilustrado o biorreator anaeróbio, bem como um conjunto de elementos essenciais para o seu correto funcionamento.

A unidade laboratorial utilizada é constituída ainda, para além do biorreator, pelos seguintes sistemas: sistema de armazenamento e quantificação de biogás; sistema de aquecimento do biorreator; sistema de agitação do biorreator; e sistema de recirculação da espuma.

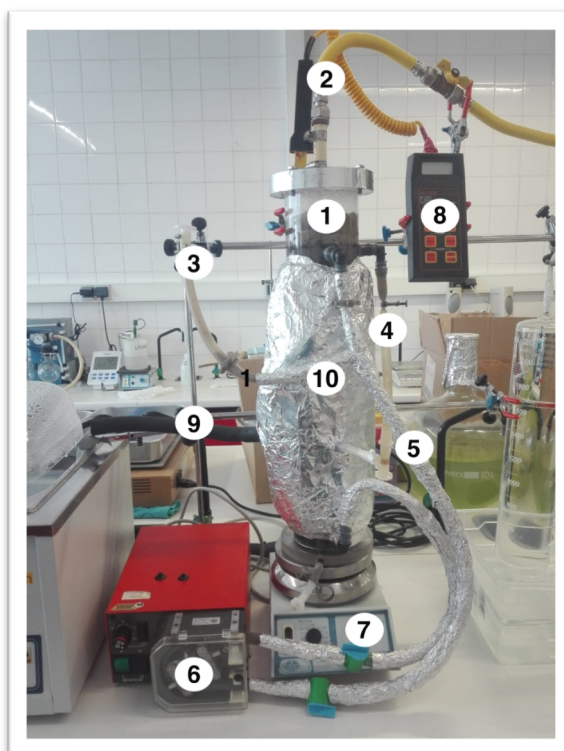


Figura 2.2. Biorreator anaeróbio de mistura completa. Legenda: (1) Recipiente cilíndrico de acrílico, com um volume de 2,75 L; (2) Tubo de saída do biogás; (3) Tubo de entrada do afluente; (4) Tubo de saída do efluente; (5) Tubo de recirculação; (6) Bomba peristáltica (*Watson Marlow*, modelo 302S) para forçar a entrada do afluente e para realizar a recirculação do conteúdo do biorreator; (7) Placa de agitação magnética (*Agimatic-N*); (8) Medidor de temperatura (*Hanna Instruments*, modelo HI 9053); (9) Tubo de entrada de água na serpentina de aquecimento; (10) Isolamento em fibra de vidro do biorreator e da serpentina de aquecimento.

O sistema de armazenamento e quantificação do biogás é constituído por duas colunas de vidro, graduadas com uma escala em mL, que se encontram preenchidas com água desmineralizada (*Millipore*, modelo *Elix 5*) acidificada (figura 2.3). As colunas estão ligadas a dois tubos, um na parte superior (figura 2.3(3)) e outro na sua base. O primeiro foi utilizado para se esvaziar o biogás armazenado nas colunas de água. O segundo tubo está ligado ao topo do biorreator para recolha do biogás (figura 2.3(2)). Por fim, o tubo de condução do biogás está ligado ao tubo de saída do biogás para o armazenamento em sacos *Tedlar* (figura 2.3(4)), para permitir a sua recolha e posterior caracterização química.

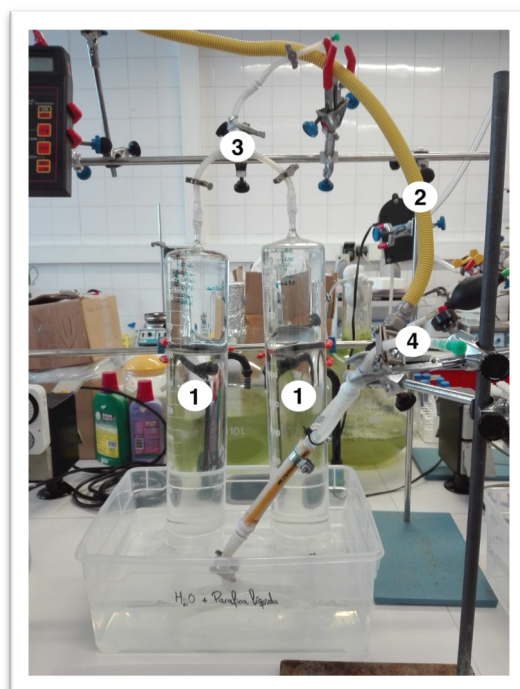


Figura 2.3. Sistema de armazenamento e quantificação do biogás produzido no biorreator anaeróbio. Legenda: (1) Colunas de água; (2) Tubo de condução do biogás do biorreator para as colunas; (3) Tubo de saída do biogás das colunas; (4) Tubo de saída do biogás para armazenamento em sacos *Tedlar*.

O biorreator anaeróbio foi operado na gama mesófila, a uma temperatura de  $37 \pm 1$  °C. Este foi aquecido através de um sistema de aquecimento composto por uma serpentina colocada em seu redor, coberta com isolamento de fibra de vidro para evitar perdas de calor para o exterior, e um banho de aquecimento (*Nüve bath*, modelo NB 20). Na serpentina circula a água previamente aquecida pelo banho de aquecimento (figura 2.4).



Figura 2.4. Banho de aquecimento de água (*Nüve bath*, modelo NB 20) que alimenta o sistema de aquecimento do biorreator.

A agitação do biorreator anaeróbio foi efetuada por uma placa de agitação magnética (*Agimatic-N*) colocada na sua base (figura 2.2(7)). Esta placa era responsável por manter o agitador magnético, presente no interior do biorreator, em rotação constante (100 rpm). O sistema de recirculação de espumas funcionava apenas duas vezes por dia, durante 15 min em cada período de funcionamento. Através de uma bomba peristáltica (*Watson Marlow*, modelo 302S) (figura 2.2(6)), a espuma que se acumulava na parte superior do biorreator era bombada para a base do biorreator (figura 2.2(5)).

O diagrama da unidade laboratorial utilizada ao longo de toda a atividade experimental encontra-se na figura 2.5.

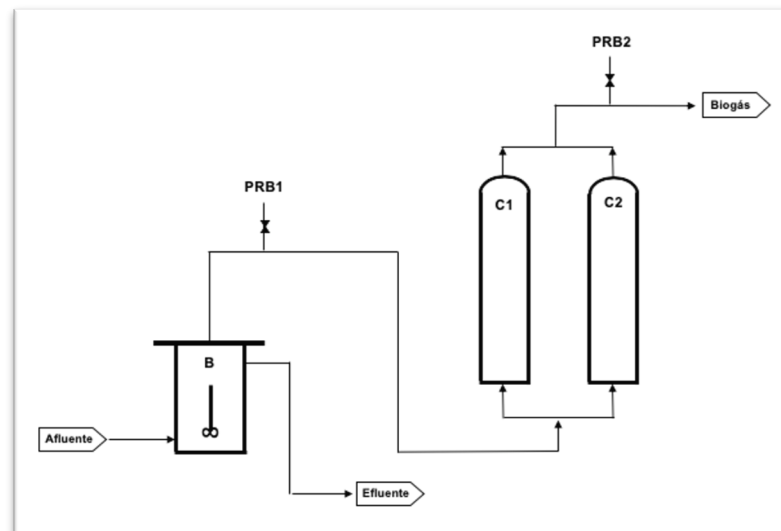


Figura 2.5. Esquema da unidade laboratorial. Legenda: B – Biorreator; C# – Coluna de armazenamento; PRB# – Ponto de Recolha de Biogás.

### 2.2.1. Procedimento Experimental de Alimentação

A alimentação do biorreator anaeróbio foi efetuada através do tubo de entrada do afluente (figura 2.6(1)) com o auxílio de um funil. Este foi completamente preenchido por forma a reduzir-se a entrada de ar. Foi ainda utilizado uma bomba peristáltica (*Watson Marlow*, modelo 302S) para forçar a entrada do afluente na parte inferior do biorreator. Simultaneamente, através do tubo de saída do efluente (figura 2.6(2)), um volume igual ao da entrada era recolhido como efluente do biorreator anaeróbio.

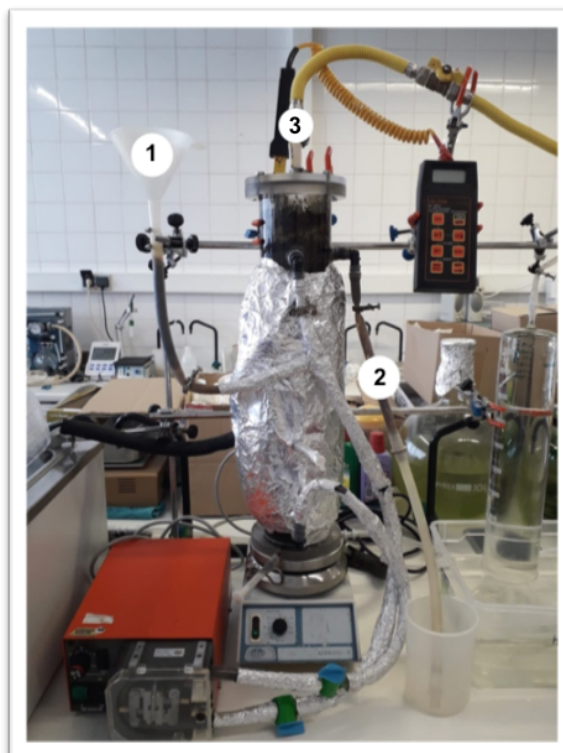


Figura 2.6. Biorreator anaeróbio numa fase de alimentação. Legenda: (1) Funil de entrada do afluente; (2) Tubo de saída do efluente; (3) Tubo de saída do biogás.

No decorrer deste processo foi sempre tido o cuidado de manter toda a tubagem fechada com as pinças, por forma a evitar a entrada de ar no biorreator. O tubo de saída do biogás (figura 2.6(3)), que faz a ligação do *headspace* do biorreator com as colunas de água, permanecia fechado durante este processo.

De salientar que, em todas as alimentações, o afluente foi previamente aquecido numa placa de aquecimento (*Agimatic-N*), até uma temperatura de 37 °C, de forma evitar um choque térmico nas populações de microrganismos existentes no interior do biorreator anaeróbio.

### 2.2.2. Procedimento Experimental de Controlo e Monitorização

A operação de um biorreator anaeróbio depende de diversos parâmetros de natureza operacional, química e bioquímica. Dada a complexidade microbiológica no interior deste tipo de biorreator, é essencial alcançar-se a harmonia entre todos estes parâmetros, de modo a tornar o processo o mais estável possível. A definição de procedimentos de controlo e monitorização pode prevenir eventuais problemas assim como permitir a otimização do processo. Durante o presente trabalho foram acompanhados os seguintes parâmetros de controlo e monitorização do biorreator:



- Carga orgânica afluyente

A concentração de SV no volume de afluyente introduzido diariamente no biorreator foi determinada pelo método descrito na secção 2.3.3.1. Esta concentração foi usada, juntamente com o volume útil do biorreator, para se calcular a carga orgânica aplicada diariamente.

- Temperatura

A temperatura do biorreator foi monitorizada diariamente com recurso a um medidor de temperatura (*Hanna Instruments*, modelo HI 9053), por forma a avaliar-se se este parâmetro se mantinha constante ao longo dos ensaios.

- pH

Diariamente, após a alimentação do biorreator, o pH do efluente foi quantificado com recurso a um medidor de pH (*Hanna edge*, modelo HI 2002-02) com o objetivo de se monitorizar o pH no interior do biorreator.

- Agitação

A agitação do biorreator foi efetuada com recurso a uma placa de agitação magnética (*Agimatic-N*) e a uma barra magnética colocada no interior do biorreator. A agitação foi mantida constante, a cerca de 100 rpm.

- Condutividade

A condutividade do efluente foi quantificada, diariamente, com recurso a um eléctrodo de condutividade (*Thermo Scientific*, modelo *Orion Star A215*), após a alimentação do biorreator. Pretendeu-se, assim, monitorizar a condutividade no interior do biorreator.

### **2.2.3. Procedimento Experimental de Quantificação do Biogás**

A quantificação do biogás produzido pelo biorreator anaeróbio foi realizada através da medição do volume de biogás acumulado nas colunas de água, graduadas em intervalos de 20 mL ± 5 mL, destinadas ao seu armazenamento.

O biogás produzido no biorreator anaeróbio aumenta a pressão no interior do biorreator induzindo a sua condução através do tubo de condução de biogás (figura 2.4(2)) até às colunas de água. O biogás ocupava o topo das colunas, sendo possível a medição do seu volume.

## **2.3. Ensaios Experimentais**

Os ensaios realizados no decorrer da atividade laboratorial tiveram como objetivo a comparação do desempenho do biorreator anaeróbio quando alimentado com FORSU e com AOVs provenientes do biorreator de *dark fermentation*. O seu comportamento foi monitorizado em cada ensaio realizado.

### **2.3.1. Inoculação do Biorreator Anaeróbio**

O biorreator anaeróbio foi inoculado com lama anaeróbia proveniente das instalações da ETVO – Valorsul. A recolha da lama foi efetuada no sistema de bombagem posterior aos digestores metanogénicos, operados em condições termófilas (51 °C). A inoculação foi efetuada com 2,5 L de lama anaeróbia,

com o objetivo de garantir a presença de microrganismos metanogénicos no biorreator anaeróbio. A caracterização química da lama anaeróbia utilizada para inocular o biorreator encontra-se na tabela 2.1.

Tabela 2.1. Caracterização química da lama anaeróbia.

Parâmetro	Valor
ST (% m/v)	22,9 ± 1,0
SF (% m/v)	10,7 ± 0,1
SV (% m/v)	12,2 ± 0,9
CQOt (g O <sub>2</sub> /L)	24 ± 2
CQOs (g O <sub>2</sub> /L)	14 ± 1
N-Kjeldahl (g N/L)	2,44 ± 0,01
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g N/L)	1,23 ± 0,01
N-Orgânico (g N/L)	1,21 ± 0,01

### 2.3.2. Alimentação do Biorreator Anaeróbio

O biorreator anaeróbio foi alimentado diariamente, durante todos os dias úteis. O substrato orgânico utilizado foi previamente aquecido numa placa de aquecimento (*Agimatic-N*), de modo a evitar-se um choque térmico no interior do biorreator anaeróbio.

No decorrer dos ensaios experimentais foi aplicado um TRH de 21 dias, com o objetivo de se replicar as condições de operação da ETVO-Valorsul. Neste contexto, o biorreator anaeróbio foi alimentado com um volume de, aproximadamente, 183 mL diários, nos três ensaios realizados.

No primeiro ensaio, denominado por “FORSU”, o substrato utilizado como afluente foi a FORSU proveniente ETVO – Valorsul. Neste ensaio, a carga orgânica aplicada ao biorreator anaeróbio foi de 4,25 g SV/(L.d).

No segundo ensaio, denominado por “AOV4”, a carga orgânica aplicada ao biorreator anaeróbio foi de 2,80 g SV/(L.d) e o substrato utilizado como afluente foi o efluente de um biorreator de *dark fermentation* que tinha como objetivo a produção de biohidrogénio, a partir de FORSU. Este efluente sofreu uma degradação da matéria orgânica durante 4 dias (TRH do biorreator de *dark fermentation*) no biorreator fermentativo.

Por fim, no terceiro e último ensaio, denominado por “AOV5”, o substrato utilizado como afluente foi, mais uma vez, o efluente do biorreator de *dark fermentation*. Neste ensaio o efluente sofreu uma degradação da matéria orgânica durante 5 dias (TRH do biorreator de *dark fermentation*) no biorreator fermentativo. A carga orgânica aplicada ao biorreator anaeróbio foi de 2,56 g SV/(L.d).

A tabela 2.2 apresenta, de forma resumida, o tipo e a origem dos substratos orgânicos, bem como a COA e o TRH dos três ensaios.

Tabela 2.2. Resumo das condições dos três ensaios experimentais.

Ensaio	Substrato		COA (g SV/(L.d))	TRH (d)
	Tipo	Origem		
FORSU	FORSU	Valorsul	4,25	21
AOV4	AOVs	Biorreator Fermentativo	2,80	21
AOV5	AOVs	Biorreator Fermentativo	2,56	21

### 2.3.3. Caracterização do Afluente e Efluente

No decorrer de todos os ensaios experimentais, os afluentes utilizados para alimentar o biorreator anaeróbio e os efluentes, recolhidos durante a operação de alimentação, foram caracterizados de acordo com os seguintes parâmetros: Sólidos Totais (ST), Sólidos Fixos (SF), Sólidos Voláteis (SV), Carência Química de Oxigênio total (CQOt) e solúvel (CQOs), teor de Azoto Kjeldahl (N-Kjeldahl), teor de Azoto Amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e teor de Fósforo total (P). A análise elementar (C, H, N, S) e a análise dos AOVs também foram efetuadas. Todas as caracterizações foram realizadas, pelo menos, em duplicado.

#### 2.3.3.1. Determinação dos Teores de Sólidos

A determinação dos ST presente nas amostras foi efetuada de acordo com o Método Gravimétrico 2540B da APHA/AWWA/WPCF (2005). As amostras foram submetidas a evaporação em banho de água (*P-Selecta*, modelo 600 1239), num cadinho previamente tarado, e a secagem, a 105 ± 1°C, numa mufla (*CEM*, modelo *MAS 7000*). O cadinho contendo as amostras secas foi posteriormente pesado numa balança analítica (*Denver Instrument Company*, modelo *TR-204*, precisão: 0,0001 g). Os ciclos de secagem e pesagem foram repetidos até que se obtivesse uma variação do peso, entre pesagens consecutivas, inferior a 5% (m/m). Os ST foram calculados pela equação (2.1).

$$ST = \frac{P_1 - P_0}{V_a} \times 1000 \quad (2.1)$$

Onde,

*ST* – Concentração de Sólidos Totais (g/L);

*P*<sub>0</sub> – Tara do cadinho a 105 ± 1 °C (g);

*P*<sub>1</sub> – Tara do cadinho a com a amostra seca a 105 ± 1 °C (g);

$V_a$  – Volume de amostra (mL).

Os SF foram determinados de acordo com o Método Gravimétrico 2540E da APHA/AWWA/WPCF (2005). Os ST, determinados pelo método anteriormente descrito, foram sujeitos a uma calcinação a  $550 \pm 10$  °C, numa mufla (CEM, modelo MAS 7000) e pesados numa balança analítica (Denver Instrument Company, modelo TR-204, precisão: 0,0001 g). Os ciclos de calcinação e pesagem foram repetidos até que se obtivesse uma variação do peso, entre pesagens consecutivas, inferior a 5% (m/m). Os SF foram calculados através da equação (2.2).

$$SF = \frac{P_3 - P_2}{V_a} \times 1000 \quad (2.2)$$

Onde,

$SF$  – Concentração de Sólidos Fixos (g/L);

$P_2$  – Tara do cadinho a  $550 \pm 10$  °C (g);

$P_3$  – Tara do cadinho com a amostra calcinada a  $550 \pm 10$  °C (g);

$V_a$  – Volume de amostra (mL).

Os SV resultam da diferença entre os ST e os SF (equação 2.3):

$$SV = ST - SF \quad (2.3)$$

Onde,

$SV$  – Concentração de Sólidos Voláteis (g/L);

$ST$  – Concentração de Sólidos Totais (g/L);

$SF$  – Concentração de Sólidos Fixos (g/L).

#### 2.3.3.2. Determinação da CQOt e CQOs

A determinação da Carência Química de Oxigénio total (CQOt) e solúvel (CQOs) foi efetuada de acordo com o Método de Refluxo Aberto 5220B da APHA/AWWA/WPCF (2005). As amostras foram previamente diluídas, numa razão de 1:50, tanto as do afluente como as do efluente. As amostras foram depois oxidadas quimicamente com dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) (0,5 N) (Panreac), durante uma digestão ácida, num termo-reator (Behr Labor-Technick), a 160 °C, durante 60 min. A oxidação das amostras, durante a digestão ácida, ocorreu na presença de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) (>95% v/v) (Fisher chemical), 0,005 g de sulfato de mercúrio ( $HgSO_4$ ) (Chemlab) e esferas de vidro como reguladores de ebulição. Após a digestão ácida ter sido concluída, aguardou-se até que o digerido arrefecesse. Em seguida, o dicromato de potássio adicionado em excesso, em relação à matéria orgânica presente na amostra e que não reagiu com a matéria orgânica, foi quantificado por titulação com sulfato ferroso amoniacal ( $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ ) (0,5 N) (Panreac), na presença do indicador ferroína (Sigma-Aldrich).

De salientar que, para a determinação da CQOs, foi utilizado apenas a fração líquida das amostras. A separação da fração líquida foi obtida através da centrifugação numa centrifugadora refrigerada (Sigma, modelo 4K15C), em dois ciclos consecutivos, de modo a remover-se a maior quantidade de

partículas sólidas suspensas. No primeiro ciclo, as amostras foram sujeitas à centrifugação durante 20 min, a 1000 g, à temperatura de  $20 \pm 1$  °C. No segundo ciclo, as amostras foram sujeitas a uma nova centrifugação, durante 30 min, a 5000 g, à mesma temperatura que a centrifugação anterior.

O cálculo da CQOt e da CQOs foi realizado através da equação (2.4):

$$CQO_x = \frac{V_{branco} - V_{amostra}}{V_a} \times 8000 \times T \times F_d \quad (2.4)$$

Onde,

$CQO_x$  – Carência Química de Oxigênio total ou solúvel (mg O<sub>2</sub>/L);

$V_{branco}$  – Volume de titulante gasto no branco (mL);

$V_{amostra}$  – Volume de titulante gasto na amostra (mL);

$V_a$  – Volume de amostra (mL);

$T$  – Concentração do titulante (N);

$F_d$  – Fator de diluição da amostra;

8000 – Fator de conversão resultante da multiplicação do fator 8, que corresponde à conversão de equivalente-miligrama de crômio para equivalente-miligrama de O<sub>2</sub>, por 1000, que corresponde à conversão de mL para L de amostra.

#### 2.3.3.3. Determinação do Azoto de Kjeldahl e Azoto Amoniacal

O Azoto *Kjeldahl* (N-Kjeldahl) foi determinado de acordo com a norma ISO 5663:1984. Segundo esta norma, as amostras foram submetidas a uma digestão ácida num termo-reator (*Velp Scientific*) a uma temperatura de 360 °C. A digestão ocorreu na presença de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (>95% v/v) (*Fisher chemical*), uma mistura catalisadora de selênio negro (Se) e de zinco (Zn), em pó, e de esferas de vidro reguladoras de ebulição. A digestão durou o tempo necessário até que as amostras se apresentassem translúcidas. Em seguida, o digerido foi filtrado através de filtros de microfibras de vidro (*Filters Fioroni*), com uma porosidade <2 µm.

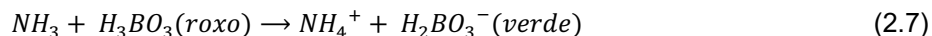
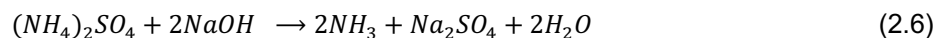
Posteriormente, o digerido foi alcalinizado (até pH ≥8) com hidróxido de sódio (NaOH) (6 N) (*Panreac*), na presença do indicador fenolftaleína. Após o digerido ter sido alcalinizado, este foi destilado numa unidade de destilação (*Kjeltec System 1002 Distilling Unit Tecator*). O destilado resultante contém NH<sub>3</sub> e foi recolhido num balão que continha uma mistura de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) (>99,8% v/v) (*Chemlab*) com solução indicadora de ácido bórico. Em seguida, a solução resultante foi titulada com ácido sulfúrico (0,02 N) (*Fisher Scientific*) de forma a quantificar o volume de titulante utilizado até que se verificasse uma alteração de cor verde para roxo forte.

As reações químicas que descrevem as etapas de digestão, destilação e titulação são dadas pelas equações 2.5, 2.6, 2.7 e 2.8:

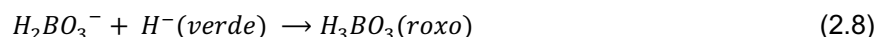
Digestão:



Destilação:



Titulação:



O N-Kjeldahl foi calculado de acordo com a equação (2.9):

$$N\text{-Kjeldahl} = 0,02 \times 14 \times V_t \times \frac{V_b}{V_a \times V_c} \times 1000 \quad (2.9)$$

Onde,

N-Kjeldahl – Concentração de azoto Kjeldahl (mg N/L);

$V_t$  – Volume de titulante gasto na titulação da solução indicadora de ácido bórico após a destilação (mL);

$V_a$  – Volume de digerido ácido utilizado na destilação (mL);

$V_b$  – Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

$V_c$  – Volume de amostras inicial submetido à digestão ácida (mL);

0,02 – Concentração do titulante (N);

14 – Massa atômica relativa de N (adimensional);

1000 – Fator de conversão de mL para L.

A determinação do Azoto Amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) foi efetuada de acordo com a norma ISO 5664:1984. A sua quantificação é semelhante ao procedimento de quantificação do N-Kjeldahl, exceto que não foi realizado o passo de digestão ácida. As amostras foram previamente diluídas numa razão de 1:25.

O N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pode ser quantificado segundo a equação (2.10):

$$N\text{-NH}_4 = \frac{V_t \times 280}{V_a} \times F_d \quad (2.10)$$

Onde,

N-NH<sub>4</sub> – Concentração de Azoto Amoniacal (mg N/L);

$V_t$  – Volume de titulante gasto na titulação da solução indicadora de ácido bórico após a destilação (mL);

$V_a$  – Volume de amostra submetido a destilação (mL);

$F_d$  – Fator de diluição;

280 – Fator resultante da multiplicação da concentração do titulante (0,02 N), pela massa atômica relativa de N (14) e pelo fator 1000 de conversão do volume de mL para L;

O N-Orgânico foi calculado de acordo com a equação (2.11):

$$\text{N-Orgânico} = \text{N-Kjeldahl} - \text{N-NH}_4 \quad (2.11)$$

Onde,

N-Orgânico – Concentração de Azoto Orgânico (mg N/L);

N-Kjeldahl – Concentração de Azoto Kjeldahl (mg N/L);

N-NH<sub>4</sub> – Concentração de Azoto Amoniacal (mg N/L).

#### 2.3.3.4. Determinação do Fósforo Total

A determinação do Fósforo Total (P) foi efetuada de acordo com a norma ISO 6878:2004, através de um método espectrofotométrico.

A determinação da absorvência das amostras exigiu a preparação de duas soluções distintas, a solução padrão e a solução redutora. A solução padrão foi preparada num balão de 100 mL. Neste adicionou-se 2 mL de solução *stock* de fósforo (50 µg P/mL) e posteriormente perpez-se com água ultrapura (*Milipore, Milli-Q Academic*) até um volume de 100 mL. A preparação da solução redutora foi efetuada num balão de 200 mL no qual se adicionou 100 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (5N) (>95% v/v) (*Fisher chemical*), 30 mL de molibato de amónio ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O) (0,032 N) (*Riedel-de Haën*), 1,056 g de ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) (*Fisher chemical*) e 10 mL de tartarato de potássio (K<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.0,5H<sub>2</sub>O) (*Merck*), respetivamente. Por fim, perpez-se com água ultrapura (*Milipore, Milli-Q Academic*) até um volume de 200 mL.

De forma a construir-se a reta de calibração (figura 2.7), foi necessário preparar soluções com diferentes concentrações de P (0; 2,5; 5; 10; 15; 20 e 25 µg P/mL). A cada solução foram adicionados 8 mL de solução redutora e água ultrapura (*Milipore, Milli-Q Academic*) até um volume de 100 mL. Após 20 min para o desenvolvimento de cor, a absorvência das diferentes soluções foi quantificada num espectrofotómetro (*Peak Instruments Inc.*, modelo E-1000UV), a um comprimento de onda de 880 nm.

As amostras foram preparadas do seguinte modo: num balão de 100 mL adicionou-se 1 mL de amostra previamente digerida tal como foi indicado na quantificação do N-Kjeldahl, 3 gotas do indicador fenoltaleína e NaOH (6 N) (*Panreac*) até que se verificasse uma alteração de cor de transparente para rosa forte (pH >8,2); em seguida, adicionou-se 8 mL de solução redutora e perpez-se o balão até aos 100 mL com água ultrapura (*Milipore, Milli-Q Academic*). Aguardou-se 20 min até ao desenvolvimento da

cor azul e registou-se a absorvência desta solução no espectrofotómetro (*Peak Instruments Inc.*, modelo E-1000UV), a um comprimento de onda de 880 nm.

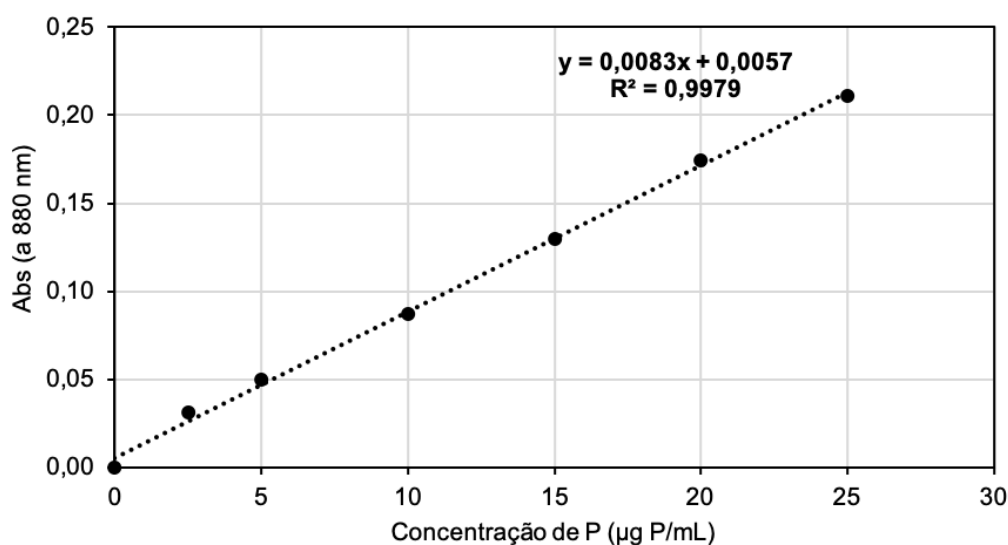


Figura 2.7. Reta de calibração de fósforo.

Através da absorvência e com recurso à equação da reta de calibração foi possível determinar-se a concentração de fósforo nas amostras através a equação 2.12:

$$P = \alpha \times \frac{V_b}{V_a \times V_c} \quad (2.12)$$

Onde,

$P$  – Concentração de fósforo (mg P/L);

$\alpha$  – Massa de fósforo na amostra, obtida através na reta de calibração (mg P);

$V_a$  – Volume de digerido ácido utilizado no desenvolvimento de cor (mL);

$V_b$  – Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

$V_c$  – Volume de amostra inicial submetido à digestão ácida (mL).

#### 2.3.3.5. Análise Elementar e Análise de Ácidos Orgânicos Voláteis

A Análise Elementar (AE) consiste na quantificação dos elementos C, H, N e S. O oxigénio (O) é determinado por diferença entre 100% e a soma das percentagens de CHNS e cinzas presentes nas amostras. Estes elementos foram quantificados com recurso a um termo-analisador elementar (*CE Instruments*, modelo *Flash EA 1112 CHNS series*), no Laboratório de Análises do LAQV-REQUIMTE.

Os AOVs foram determinados por cromatografia líquida de alta resolução (*Dionex ICS3000*) constituído por uma coluna *Biorad Aminex 87H* e um detetor UV de 210 nm. O eluente utilizado foi uma solução



de  $H_2SO_4$  (10 mN) com um caudal de 0,6 mL/min, durante 30 min. Os AOVs quantificados foram os seguintes: ácido acético; ácido fórmico; ácido propanóico; ácido butanóico. Assumiu-se ainda que a soma das concentrações individuais destes ácidos constituiu os AOVs totais presentes na amostra. A análise dos AOVs foi também realizada pelo Laboratório de Análises do LAQV-REQUIMTE.

#### 2.3.4. Análise Quantitativa e Qualitativa do Biogás

A quantidade de biogás produzida, no decorrer de cada ensaio, foi quantificada a partir do volume de biogás, em mL, armazenado nas colunas de água descritas anteriormente.

A caracterização do biogás envolveu a sua recolha em sacos *Tedlar*, de 10 L (figura 2.8). As amostras de biogás foram recolhidas, em cada ensaio, apenas quando o biorreator se encontrava estabilizado, isto é, quando a curva do volume acumulado do biogás se encontrava em condições de estado estacionário (cerca de 2 tempos de retenção após o início da alimentação com um novo substrato orgânico).



Figura 2.8. Recolha de biogás em sacos *Tedlar* de 10 L.

A partir do volume de biogás registado nas colunas de armazenamento e da percentagem de metano do biogás, foi possível, através da equação (2.13), determinar-se o volume de metano produzido:

$$V_{CH_4} = \frac{CH_4 \times V_{biogás}}{100} \quad (2.13)$$

Onde,

$V_{CH_4}$  – Volume de  $CH_4$  produzido (mL);

$CH_4$  – Percentagem de  $CH_4$  no biogás (% v/v);

$V_{biogás}$  – Volume de biogás (mL);

100 – Fator de conversão de percentagem para volume (%).

#### 2.3.5. Quantificação de Cargas Aplicadas, Eficiência de Remoção, Razão de Biodegradabilidade e Rendimentos de Produção de Biogás e Metano

A carga volúmica foi calculada pela equação (2.14):

$$CV_x = \frac{C_x \times V_a}{V_r} \quad (2.14)$$

Onde,

$CV_x$  – Carga volúmica de SV ou CQOs (g SV/(L<sub>biorreator.d</sub>) ou g O<sub>2</sub>/(L<sub>biorreator.d</sub>), respetivamente);

$C_x$  – Concentração de SV ou CQOs no afluente (g SV/L ou g O<sub>2</sub>/L, respetivamente);

$V_a$  – Volume do afluente (L.d);

$V_r$  – Volume útil do biorreator (L).

A eficiência de remoção de SV ou CQOs foi quantificada pela equação (2.15):

$$ER_x = \frac{C_{x,a} - C_{x,e}}{C_a} \times 100\% \quad (2.15)$$

Onde,

$ER_x$  – Eficiência de remoção de SV ou CQOs (%);

$C_{x,a}$  – Concentração de SV ou CQOs no afluente (g SV/L ou g O<sub>2</sub>/L, respetivamente);

$C_{x,e}$  – Concentração de SV ou CQOs no efluente (g SV/L ou g O<sub>2</sub>/L, respetivamente).

A razão de biodegradabilidade permite avaliar a taxa de disponibilidade do substrato e é dada pela equação (2.16):

$$RB = \frac{CQO_s}{CQO_t} \times 100 \quad (2.16)$$

Onde,

$RB$  – Razão de biodegradabilidade (%);

$CQO_s$  – Carência Química de Oxigénio solúvel (mg O<sub>2</sub>/L);

$CQO_t$  – Carência Química de Oxigénio total (mg O<sub>2</sub>/L);

100 – Fator de conversão para percentagem (%).

A redução de matéria orgânica foi determinada pela equação (2.17):

$$RMO = RR_a - RR_e \quad (2.17)$$

Onde,

$RMO$  – Redução de matéria orgânica (%);

$RR_a$  – Razão de biodegradabilidade do afluente (%);

$RR_e$  – Razão de biodegradabilidade do efluente (%);

O rendimento de produção de biogás foi determinado pela equação (2.18):

$$\eta_{biogás} = \frac{V_{biogás}}{CV_{SV} \times V_r} \quad (2.18)$$

Onde,

$\eta_{biogás}$  – Rendimento de produção de biogás em relação aos SV introduzidos no biorreator (L/g SV);

$V_{biogás}$  – Volume diário de biogás produzido (L/d);

$CV_{SV}$  – Carga volúmica de SV (g SV/L <sub>biorreator</sub>.d);

$V_r$  – Volume útil do biorreator (L).

Finalmente, o rendimento de produção de metano foi calculado através da equação (2.19):

$$\eta_{CH_4} = \frac{V_{CH_4}}{CV_{SV} \times V_r} \quad (2.19)$$

Onde,

$\eta_{CH_4}$  – Rendimento de produção de metano em relação aos SV introduzidos no biorreator (L/g SV);

$V_{CH_4}$  – Volume diário de metano produzido (L/d);

$CV_{SV}$  – Carga volúmica de SV (g SV/L <sub>biorreator</sub>.d);

$V_r$  – Volume útil do biorreator (L).

### 2.3.6. Potencial Energético

A quantidade de energia elétrica que potencialmente poderia ser produzida, em cada ensaio, foi determinada a partir do volume total de biogás produzido e da concentração de metano presente no biogás. De acordo com Singh & Basak (2018), 1 m<sup>3</sup> de biogás, com 60% (v/v) de metano, produz cerca de 2 kWh de energia elétrica útil. Uma vez que, nos ensaios realizados, o biogás produzido apresentou uma concentração de metano diferente da concentração de metano referida por estes autores, foi necessário calcular-se o Poder Calorífico Inferior do biogás, para cada ensaio. De acordo com Mitzlaff (1988), o Poder Calorífico Inferior do biogás é dado pela equação (2.20):

$$PCI_{biogás} = \frac{C_{CH_4}}{100} \times \rho_{CH_4} \times PCI_{CH_4} \quad (2.20)$$

Onde,

$PCI_{biogás}$  – Poder Calorífico Inferior do biogás (MJ/Nm<sup>3</sup>);

$C_{CH_4}$  – Concentração de metano (% v/v);

$\rho_{CH_4}$  - Densidade do metano (0,72 kg/Nm<sup>3</sup>);

$PCI_{CH_4}$  - Poder Calorífico Inferior do metano (50 MJ/kg).

Assim, a quantidade potencial de energia elétrica produzida em cada ensaio, de acordo com Mitzlaff (1988) expressa a partir do poder calorífico do biogás e do rendimento de produção de biogás em relação aos SV aplicados ao biorreator, pode ser calculada pela equação (2.21):

$$E_p = PCI_{biogás} \times \eta_{biogás} \times \varphi \quad (2.21)$$

Onde,

$E_p$  – Energia elétrica potencial que poderá ser produzida (kWh/kg SV);

$PCI_{biogás}$  – Poder Calorífico Inferior do biogás (MJ/Nm<sup>3</sup>);

$\eta_{biogás}$  – Rendimento de produção de biogás em relação aos SV aplicados ao biorreator (m<sup>3</sup>/kg SV);

$\varphi$  – Fator de conversão de MJ para kWh (0,28).

# 3

## Resultados e Discussão

### 3.1. Parâmetros de Controlo

No decorrer dos ensaios experimentais foram monitorizados os seguintes parâmetros: temperatura, pH e condutividade. O controlo e monitorização destes parâmetros permitiu prevenir eventuais problemas, assim como otimizar o processo. A tabela 3.1 apresenta os valores médios da temperatura, pH e condutividade registados no digerido de cada ensaio.

Tabela 3.1. Valores médios da temperatura, pH e condutividade do digerido de cada ensaio ( $\bar{x} \pm \sigma$ ).

Ensaio	Temperatura (°C)	pH	Condutividade (mS/cm)
FORSU	36,2 ± 0,1	7,86 ± 0,05	30,5 ± 1,1
AOV4	36,6 ± 0,5	7,92 ± 0,05	30,9 ± 0,5
AOV5	36,6 ± 0,3	7,51 ± 0,26	30,1 ± 0,5

A partir dos valores médios da temperatura (tabela 3.1) concluiu-se que, nos três ensaios realizados, a temperatura apresentou uma variação muito reduzida, com um valor médio para os três ensaios em torno dos 36,5 °C. Nos ensaios AOV4 e AOV5, a temperatura média foi de 36,6 °C, ligeiramente superior à temperatura do ensaio FORSU (36,2 °C). Os reduzidos desvios-padrão verificados são indicadores das pequenas flutuações deste parâmetro, concluindo-se que o biorreator se manteve estável durante os três ensaios realizados. Akunna (2015) afirma que é condição essencial manter a temperatura constante, de modo a manter-se o processo estável. A alimentação diária do biorreator poderia causar

variações na temperatura do biorreator, mas uma vez que o substrato utilizado como afluente foi previamente aquecido, para evitar choques térmicos, estas variações foram muito atenuadas.

De acordo com Akunna (2015), a gama de temperatura mesófila está compreendida entre os 25-40 °C. Kim et al. (2017), por outro lado, afirma que a gama de operação mesófila varia entre os 30-40 °C. Assim, de acordo com os resultados obtidos em cada ensaio, concluiu-se que todos os ensaios foram realizados em condições mesófilas.

No que diz respeito ao pH, os valores médios registados nos três ensaios, mantiveram-se entre 7,51 e 7,92 (tabela 3.1). Verificou-se que o valor médio do pH do ensaio FORSU para o ensaio AOV4 sofreu um aumento ligeiro, podendo ser justificado com o aumento da degradação de compostos azotados no ensaio AOV4. Segundo Abbasi et al. (2012), o pH aumenta durante o processo da metanogénese, devido a digestão dos compostos azotados, atingido valores entre 7,6-8,2. Os valores médios registados, para estes dois ensaios, encontram-se dentro desta gama de valores. Por outro lado, do ensaio AOV4 para o ensaio AOV5 verificou-se uma diminuição do pH, podendo esta diminuição ser justificada pelo facto da produção de azoto não ter aumentado neste ensaio, confirmado pelo valor de pH registado no ensaio AOV5, de 7,51, abaixo da gama anteriormente referida por Abbasi et al. (2012).

O pH é um parâmetro de controlo indicador da qualidade do ambiente no biorreator para os microrganismos metanogénicos (Siddique & Wahid, 2018). Segundo Khan et al. (2016), a metanogénese é favorecida para valores de pH que variam entre 6,5-8,2. A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que, nos três ensaios, foi privilegiado um ambiente favorável aos microrganismos metanogénicos, uma vez que os valores de pH médios registados se encontram dentro da gama ótima de pH referida por Khan et al. (2016). Os microrganismos metanogénicos são extremamente sensíveis a variações de pH. Manter-se o pH estável é fundamental para que o processo seja eficiente (Labatut, 2018). Pode-se assim afirmar que as reduzidas flutuações de pH, registadas nos três ensaios, são indicadoras da elevada estabilidade do processo metanogénico que decorreu no interior do biorreator.

A medição diária da condutividade é um parâmetro de controlo indicativo do fornecimento de sais ao biorreator e do grau de mineralização da matéria orgânica no seu interior. Depende das características do substrato utilizado como alimento e da atividade de mineralização pelo consórcio microbiano. De acordo com a tabela 3.1, a condutividade nos três ensaios manteve-se muito estável, variando entre 30,1-30,9 mS/cm. Verificou-se que o maior valor foi registado no ensaio AOV4 (30,9 mS/cm) e o menor no ensaio AOV5 (30,1 mS/cm). Nos três ensaios, os valores médios de condutividade registados são ligeiramente superiores a 30 mS/cm, valor para o qual não se verifica inibição dos microrganismos metanogénicos (Zentner, 2019). Para Theuerl et al. (2019), valores de condutividade acima de 30 mS/cm indicam condições desfavoráveis para o processo, assim como variações na diversidade microbiológica. Segundo Roitsch & Büscher (2009), um valor crítico para o processo é alcançado apenas a partir de 60 mS/cm, valor duas vezes superior ao registado durante os ensaios. Assim, conclui-se que a condutividade registada nos três ensaios é indicativa de um processo microbiológico estável.

### 3.2. Caracterização do Afluente do Biorreator em cada ensaio

A caracterização do afluente de um biorreator anaeróbio permite avaliar o seu desempenho, assim como comparar o desempenho do biorreator entre os diferentes ensaios realizados. Os resultados da caracterização físico-química do afluente (substrato orgânico) de cada ensaio são apresentados na tabela 3.2.

Tabela 3.2. Caracterização físico-química do afluente e efluente de cada ensaio ( $\bar{x} \pm \sigma$ ).

Parâmetro	Afluente			Efluente		
	FORSU	AOV4	AOV5	FORSU	AOV4	AOV5
pH	4,53 ± 0,03	5,54 ± 0,01	5,32 ± 0,01	7,86 ± 0,01	7,92 ± 0,01	7,51 ± 0,02
ST (g/L)	75,4 ± 0,96	53,1 ± 1,0	48,6 ± 1,3	27,7 ± 0,2	23,4 ± 0,2	20,1 ± 0,2
SF (g/L)	11,5 ± 0,13	10,8 ± 0,1	10,1 ± 0,1	11,1 ± 0,1	11,4 ± 0,1	9,69 ± 0,11
SV (g/L)	63,9 ± 0,83	42,3 ± 0,9	38,5 ± 1,2	16,5 ± 0,1	11,8 ± 0,1	10,1 ± 0,1
SV/ST (%)	84,7	79,7	79,2	59,5	50,4	50,2
CQOt (g O <sub>2</sub> /L)	100 ± 2	106 ± 2	76 ± 1	29 ± 1	28 ± 2	22 ± 2
CQOs (g O <sub>2</sub> /L)	51 ± 1	64 ± 1	72 ± 1	13 ± 1	10 ± 1	12 ± 1
CQOp (g O <sub>2</sub> /L)	49 ± 1	42 ± 1	4 ± 1	16 ± 1	18 ± 1	10 ± 1
N-Kjeldahl (mg N/L)	2235 ± 1	2843 ± 1	2249 ± 1	2200 ± 1	2801 ± 1	2240 ± 1
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg N/L)	919 ± 1	2406 ± 1	2129 ± 1	1414 ± 1	2379 ± 1	1823 ± 1
N-Orgânico (mg N/L)	1316 ± 1	437 ± 1	120 ± 1	788 ± 1	422 ± 1	417 ± 1
P (mg P/L)	344 ± 1,50	65,6 ± 1,50	159 ± 1,50	243 ± 4	57,7 ± 1,5	134 ± 2

CQOt: CQO total; CQOs: CQO solúvel; CQOp: CQO particulado; CQOp = CQOt – CQOs

A partir da análise da tabela 3.2 verifica-se que o afluente do ensaio FORSU foi o que apresentou o valor de pH mais baixo (4,53) em comparação com o afluente dos ensaios AOV4 e AOV5 (5,54 e 5,32,

respetivamente). O resultado obtido para o valor de pH do afluente do ensaio de FORSU encontra-se de acordo com o que é documentado por Fisgativa et al. (2016). Estes autores afirmam que a FORSU apresenta valores de pH tipicamente ácidos, entre 4,4-5,8. O resultado obtido encontra-se ainda em conformidade, apesar de ligeiramente superior, ao que Silva et al. (2018) e Xiao et al. (2018) reportaram como valores de pH da FORSU, de 4,0 e 4,18, respetivamente.

Nos ensaios AOV4 e AOV5, os valores de pH encontram-se próximos do limite inferior da gama de valores de pH (4,0-6,5) em que as bactérias fermentativas acidogénicas são beneficiadas (Braguglia et al., 2018). De lembrar que os afluentes utilizados nestes ensaios foram os efluentes de um biorreator de *dark fermentation*. Para este tipo de substratos orgânicos, Algapani et al. (2017) reportam que o seu pH ronda um valor de 5,5, o qual se aproxima dos valores de pH obtidos nos substratos orgânicos usados nos ensaios AOV4 e AOV5.

No que diz respeito ao teor de sólidos, o afluente do ensaio FORSU apresentou as concentrações mais elevadas de ST e SV, com 75,4 g ST/L e 63,9 g SV/L, respetivamente. Por outro lado, o afluente do ensaio AOV5 apresentou as menores concentrações de ST e SV, com 48,6 g ST/L e 38,5 g SV/L, respetivamente. Estas concentrações foram semelhantes às do afluente do ensaio AOV4, com 53,1 g ST/L e 42,3 g SV/L. As menores concentrações de ST e SV nos ensaios AOV4 e AOV5, quando comparados com o ensaio de FORSU, são justificadas pela origem do substrato orgânico utilizado como afluente nesses ensaios. Os substratos utilizados nos ensaios AOV4 e AOV5 resultam da degradação incompleta da FORSU, num biorreator de *dark fermentation*, com o objetivo de produzir bioH<sub>2</sub> e, por este motivo, as concentrações de ST e SV do afluente nos ensaios AOV4 e AOV5 são menores do que o afluente do ensaio de FORSU, uma vez que parte da matéria orgânica contida nos sólidos já havia sido degradada no biorreator de *dark fermentation*. Os SF foram semelhantes em todos os afluentes, na ordem de grandeza dos 10,8 g/L.

O ensaio com FORSU apresentou a maior razão SV/ST com cerca de 85%. Por outro lado, nos ensaios AOV4 e AOV5, a razão SV/ST foi semelhante, na ordem de 79%. Segundo Xiao et al. (2018), a razão SV/ST da FORSU utilizada nos seus ensaios foi de 94%, acima dos 85% da FORSU utilizada no presente estudo. Fisgativa et al. (2016) afirmam que a razão SV/ST para a FORSU varia entre 85 ± 5%. Algapani et al. (2017) e Bernat et al. (2019) documentam uma FORSU com uma razão de SV/ST de 87% e 88%, respetivamente. Os valores reportados por estes últimos autores são próximos da FORSU utilizada no presente trabalho. A razão SV/ST nos ensaios AOV4 e AOV5 é menor, pelo facto da FORSU ter sofrido previamente uma degradação da matéria orgânica no biorreator de *dark fermentation*. Algapani et al. (2018, 2019) reportam valores para a razão SV/ST, de substratos orgânicos rico em AOVs, de 75% e 77%, respetivamente. Estes valores são próximos, apesar de inferiores, aos obtidos nos ensaios AOV4 e AOV5 (em média, 79,5%).

As concentrações de CQOt e CQOs nos afluentes dos ensaios FORSU e AOV4 são muito semelhantes. No ensaio FORSU registou-se cerca de 100 g O<sub>2</sub>/L para a CQOt e 51 g O<sub>2</sub>/L para a CQOs, enquanto que, no ensaio AOV4, as concentrações de CQOt e CQOs foram, respetivamente, de 106 g O<sub>2</sub>/L e 64 g O<sub>2</sub>/L. O afluente do ensaio AOV5 foi o que apresentou menores concentrações de CQOt e CQOs (76 g O<sub>2</sub>/L e 72 g O<sub>2</sub>/L, respetivamente). Algapani et al. (2017) e Xiao et al. (2018) reportam concentrações



de CQOt de 152 g O<sub>2</sub>/L e 151 g O<sub>2</sub>/L, respetivamente, e CQOs de 84 g O<sub>2</sub>/L e 77 g O<sub>2</sub>/L, respetivamente, para a FORSU. Estas concentrações são ligeiramente superiores às concentrações obtidas nos afluentes dos ensaios experimentais realizados no presente trabalho. Por outro lado, Silva et al. (2018) documentam concentrações de CQOt na ordem das 94 g O<sub>2</sub>/L, valor que se aproxima do resultado obtido ao ensaio com a FORSU.

Algapani et al. (2019) documentam uma concentração de CQOt de cerca de 88 g O<sub>2</sub>/L para os efluentes de um biorreator de *dark fermentation*, valor que se aproxima do valor de CQOt do substrato orgânico utilizado como alimento no ensaio AOV5.

As concentrações de azoto N-Kjeldahl (tabela 3.2) nos afluentes dos três ensaios encontraram-se na mesma ordem de grandeza, com um valor médio de 2442 mg N/L. O afluente do ensaio AOV4 apresentou a maior concentração de azoto N-Kjeldahl, com cerca de 2843 mg N/L. As concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, por sua vez, foram bastante distintas. Os ensaios AOV4 e AOV5 apresentaram as maiores concentrações desta espécie de azoto, com cerca de 2406 mg N/L e 2129 mg N/L, respetivamente, os quais são bastante superiores à concentração de 919 mg N/L determinada para o afluente do ensaio FORSU.

O aumento do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, nos afluentes dos ensaios AOV4 e AOV5, está relacionado com a natureza do substrato utilizado. Os substratos utilizados como afluentes, nestes dois ensaios, foram previamente degradados num biorreator fermentativo, pelo que a digestão das formas orgânicas de azoto (como por exemplo proteínas e aminoácidos), durante a *dark fermentation*, conduziram a um aumento das concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Ao contrário do que se verifica com as concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, as concentrações de azoto N-Orgânico foram inferiores nos afluentes dos ensaios AOV4 e AOV5 (437 mg N/L e 120 mg N/L, respetivamente), quando comparados com a concentração de N-Orgânico do ensaio FORSU (1316 mg N/L), devido à degradação dos sólidos voláteis que decorreu durante o processo de *dark fermentation*. A concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, corresponde a 85% e 78% do N-Kjeldahl, nos afluentes dos ensaios AOV4 e AOV5, respetivamente. Por outro lado, no afluente de ensaio FORSU, apenas 41% do N-Kjeldahl corresponde a N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Chu et al. (2008) afirmam que a FORSU apresenta concentrações médias de N-Kjeldahl e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de 3800 mg N/L e 76 mg N/L, respetivamente, enquanto Silva et al. (2018) apresentam concentrações para estas espécies de azoto de 4210 mg N/L e 200 mg N/L, respetivamente. O resultado obtido para a concentração de N-Kjeldahl no afluente do ensaio FORSU encontra-se abaixo dos valores reportados por estes autores, mas o mesmo não se verifica com as concentrações de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, tendo sido estas significativamente superiores.

No que diz respeito à concentração de N-Kjeldahl e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em substratos ricos em AOVs, como são os casos dos afluentes utilizados nos ensaios AOV4 e AOV5, Chu et al. (2008) documentam concentrações de 3633 mg N/L e 599 mg N/L, respetivamente para o azoto N-Kjeldahl e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Os valores de azoto N-Kjeldahl obtidos são inferiores ao documentado por estes autores, assim como os valores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Algapani et al. (2018, 2019) reportam que os valores para as concentrações médias de N-

$\text{NH}_4^+$ , para substratos orgânicos ricos em AOVs, podem variar entre 40-60 mg N/L. Os valores obtidos para a concentração de  $\text{N-NH}_4^+$  nos ensaios AOV4 e AOV5 foram substancialmente inferiores ao intervalo de valores reportado por estes autores.

No que respeita ao nutriente P, a concentração mais elevada foi registada no afluente do ensaio FORSU, com 344 mg P/L, sendo superior em 80,9% à concentração deste nutriente no afluente do ensaio AOV4 (65,6 mg P/L) e em 53,8% à concentração no afluente do ensaio AOV5 (159 mg P/L). Segundo Zhu et al. (2008), a concentração de P para FORSU pode rondar um valor de 327 mg P/L. O valor reportado por estes autores apresenta a mesma ordem de grandeza da concentração de P da FORSU utilizada no presente estudo.

Fisgativa et al. (2016) indicam que a concentração de P na FORSU pode variar entre 456 mg P/L e 1800 mg P/L, o que corresponde a um intervalo de valores superiores ao obtido na FORSU do presente trabalho.

As concentrações de P nos afluentes dos ensaios AOV4 e AOV5 foram menores do que o afluente do ensaio FORSU, uma vez que o afluente naqueles ensaios já havia sido submetido a degradação num biorreator fermentativo, tendo sido parte do P consumido durante o processo de *dark fermentation*.

A tabela 3.3 apresenta os resultados das concentrações dos AOVs no afluente de cada ensaio de metanogénese.

Tabela 3.3. Concentrações dos AOVs no afluente e efluente utilizado de cada ensaio.

Ensaio	AOVs			
	Ácido acético (mg/L)	Ácido butírico (mg/L)	Ácido propanoico (mg/L)	
Afluente	FORSU	6299	1089	4969
	AOV4	6422	2363	2019
	AOV5	3241	1712	195
Efluente	FORSU	8	8	<9
	AOV4	41	<6	<9
	AOV5	5	6	<9

O afluente do ensaio AOV4 (tabela 3.3) registou a maior concentração de ácido acético (6422 mg/L), comparativamente aos afluentes dos ensaios FORSU e AOV5, com 6299 mg/L e 3241 mg/L,

respetivamente. Este afluente apresentou ainda a maior concentração de ácido butírico, com 2363 mg/L, enquanto que, nos ensaios FORSU e AVO5, a concentração deste ácido foi de 1089 mg/L e 1712 mg/L, respetivamente. Por outro lado, a maior concentração de ácido propanoico foi registada no afluente do ensaio FORSU, com cerca de 4969 mg/L. Esta concentração foi substancialmente superior às concentrações registadas para este ácido nos restantes ensaios, 2019 mg/l no ensaio AOV4 e 195 mg/L no ensaio AOV5. O ácido fórmico não foi detetado em nenhum dos três afluentes.

As concentrações dos ácidos acético, butírico e propanoico comuns em FORSU, segundo Zhu et al. (2008), são de 688 mg/L, 65 mg/L e 302 mg/L, respetivamente. Os resultados obtidos para as concentrações destes ácidos, na FORSU do presente estudo, foram superiores às concentrações reportadas por estes autores. Estas concentrações aproximam-se das indicadas por Algapani et al. (2019) (ácido acético 4000 mg/L, ácido butírico 5500 mg/L e ácido propanoico 50 mg/L) e por Chu et al. (2008) (ácido acético 4100 mg/L, ácido butírico 3269 mg/L e ácido propanoico 170 mg/L) para efluentes de biorreatores fermentativos para a produção de bioH<sub>2</sub>, a partir de FORSU, como é o caso dos afluente utilizados nos ensaios AOV4 e AOV5.

Os resultados de AOVs na FORSU indiciam que a retenção dos resíduos sólidos na unidade da ETVO-Valorsul, antes do seu processamento para a produção de biogás, é favorável ao início do processo fermentativo na unidade de pré-tratamento dos resíduos (fossa e linha de pré-tratamento de húmidos).

Os resultados da análise elementar dos afluentes utilizados em cada um dos três ensaios experimentais são apresentados na tabela 3.4.

Tabela 3.4. Resultados da análise elementar dos afluentes utilizados em cada ensaio metanogénico.

Ensaio	C (% m/m)	H (% m/m)	N (% m/m)	S (% m/m)	O <sup>(1)</sup> (% m/m)	C:N	C:P
FORSU	10,3	7,89	0,69	<0,01	79,9	15	299
AOV4	8,47	6,27	0,62	<0,01	83,5	14	1291
AOV5	2,51	8,18	0,41	<0,01	87,9	6	158

$$^{(1)} O = 100 - (C + H + N + S + \text{Cinzas})$$

Verificou-se que as concentrações de C, H e N (10,3% m/m, 7,89% m/m e 0,69% m/m, respetivamente) foram superiores no afluente do ensaio com FORSU em comparação ao ensaio AOV4 (8,47% m/m, 6,27% m/m e 0,62% m/m, respetivamente) (tabela 3.4). No ensaio AOV5, as concentrações de C e N (2,52% m/m e 0,41% m/m, respetivamente) foram inferiores às do ensaio FORSU; por outro lado, a concentração de H (8,18% m/m) neste ensaio foi maior do que no ensaio FORSU (7,89% m/m) e AOV4 (6,27% m/m). Os ensaios AOV4 e AOV5 apresentam maiores concentrações de O (83,5% m/m e 87,9 % m/m, respetivamente) em comparação ao ensaio FORSU (79,9% m/m). A maior concentração de O

foi registada no ensaio AOV5. As elevadas concentrações de H e O, registadas nos afluentes dos três ensaios, são indicativas de elevadas concentrações de água. O enxofre não foi detetado em nenhum dos três afluentes.

As razões C:N e C:P permitem avaliar o equilíbrio nutricional do substrato orgânico utilizado para o processo metanogénico (Akunna, 2015). O afluente do ensaio FORSU apresentou o maior valor para a razão C:N (tabela 3.4). Fisgativa et al. (2016) reportam que a FORSU apresenta valores típicos para a razão C:N que variam entre 13-24. A FORSU utilizada no presente trabalho apresentou uma razão C:N dentro do intervalo de valores reportado pelos autores, mas próxima do limite inferior.

Labatut (2018) considera que, para razões C:N compreendidas entre 20-30, o processo de DA é considerado estável. As razões obtidas no presente estudo são inferiores ao indicado pelo autor. Apesar dos ensaios realizados com afluentes ricos em AOVs (ensaio AOV4 e AOV5) apresentarem os menores valores para esta razão, a produção de biogás nestes ensaios não foi afetada. Como se mostrará seguidamente, nestes ensaios obtiveram-se os maiores rendimentos de produção de metano.

Segundo Braguglia et al. (2018), o azoto presente no substrato, caracterizado por baixas razões C:N, é convertido em azoto amoniacal, a uma taxa mais rápida do que aquela que os microrganismos metanogénicos conseguem assimilar. Os resultados obtidos no presente estudo comprovam a afirmação destes autores, uma vez que, nos três ensaios, as concentrações de azoto amoniacal aumentaram do afluente para o efluente.

A partir da tabela 3.4 verificou-se que a maior razão C:P (1291) foi registada no afluente do ensaio AOV4. Nos ensaios FORSU e AOV5, esta razão foi de 299 e 158, respetivamente. Akunna (2015) documenta que a razão C:P ideal para o processo de metanogénese é de 120. Este valor também é reportado por Al Seadi et al. (2008). Os resultados obtidos nos três ensaios realizados foram significativamente superiores a este valor, embora, a razão C:P do ensaio AOV5 se aproxime mais dos valores reportados por estes autores.

### **3.2.1. Carga Volúmica Aplicada**

A carga volúmica aplicada ao biorreator anaeróbio, durante o processo de alimentação, é outro parâmetro a ter em atenção durante a operação de um digestor anaeróbio. As cargas volúmicas de SV e CQOs, aplicadas ao biorreator anaeróbio, em cada um dos ensaios, são apresentadas na figura 3.1.

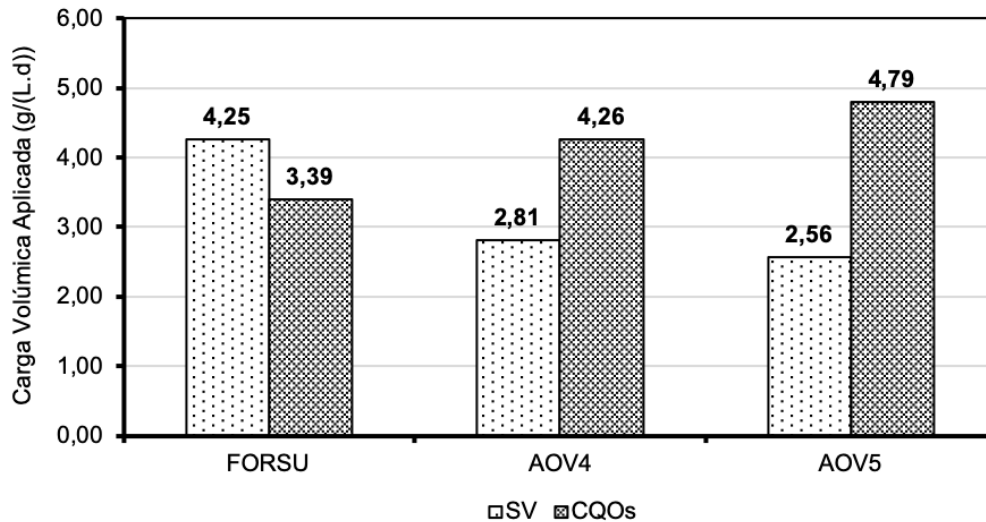


Figura 3.1. Cargas volúmicas de SV e CQOs aplicadas ao biorreator anaeróbio, em cada ensaio.

O ensaio designado por FORSU foi o que apresentou uma maior carga volúmica aplicada de SV (4,25 g SV/(L.d)). Esta carga foi superior em 51% à do ensaio AOV4 (2,81 g SV/(L.d)) e em 66% à do ensaio AOV5 (2,56 g SV/(L.d)), sendo justificada pelo facto do afluente, utilizado no ensaio FORSU, apresentar uma maior concentração de SV comparativamente aos substratos orgânicos utilizados nos ensaios AOV4 e AOV5. Os substratos orgânicos utilizados nestes dois ensaios, os quais eram provenientes do biorreator de *dark fermentation*, eram ricos em ácidos orgânicos voláteis e não tanto em SV. Gou et al. (2014) afirmam que cargas volúmicas de SV elevadas podem originar uma diminuição da eficiência de remoção dos SV, assim como uma diminuição na produção de metano. Segundo estes autores, para condições mesofílicas, a estabilidade do processo de DA é atingida para cargas volúmicas inferiores a 5 g SV/(L.d). Braguglia et al. (2018) afirmam que a DA de FORSU é considerada um processo estável para cargas volúmicas inferiores a 4,5 g SV/(L.d). Os resultados obtidos são inferiores aos limites referidos por todos estes autores, concluindo-se que as cargas volúmicas de SV aplicadas nos três ensaios contribuíram para a estabilidade do processo metanogénico.

Por outro lado, dada a natureza do substrato utilizado nos ensaios AOV4 e AOV5, as cargas volúmicas de CQOs foram superiores nestes ensaios em comparação ao ensaio FORSU. O ensaio que apresentou a maior carga volúmica de CQOs foi o ensaio AOV5, com cerca de 4,79 g O<sub>2</sub>/(L.d), seguida do ensaio AOV4, com 4,26 g O<sub>2</sub>/(L.d), e por fim o ensaio FORSU, com 3,39 g O<sub>2</sub>/(L.d). Nos ensaios AOV4 e AOV5 foram utilizados, como substratos orgânicos, os efluentes de um biorreator de *dark fermentation*, que utilizou a FORSU como afluente para a produção de bioH<sub>2</sub>. Resultando de um processo fermentativo prévio, estes substratos já haviam sofrido uma degradação biológica prévia, que conduz à diminuição da concentração de SV e ao aumento dos ácidos orgânicos dissolvidos, o que se traduz numa diminuição da concentração de SV e a um aumento da concentração de CQOs.

### 3.2.2. Análise das Eficiências de Remoção de Sólidos, CQO, Razão de Biodegradabilidade e Nutrientes

O comportamento do biorreator, durante os ensaios experimentais, pode ser avaliado através dos seguintes parâmetros: eficiência de remoção de SV, CQOs e nutrientes, e razão de biodegradabilidade.

#### 3.2.2.1. ST e SV

A figura 3.2 apresenta as eficiências de remoção de ST e SV em cada um dos ensaios de metanogénese realizados.

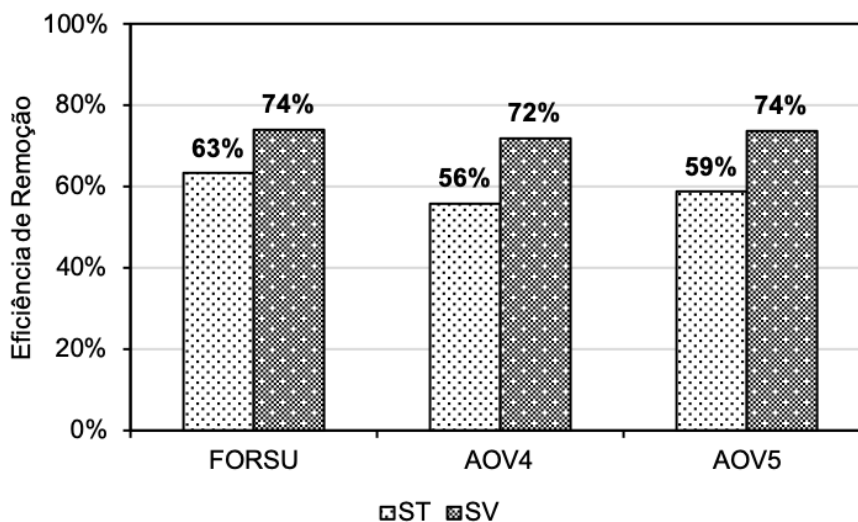


Figura 3.2. Eficiência de remoção de ST e SV de cada ensaio metanogénico.

Verificou-se, tabela 3.2, que o efluente do ensaio FORSU apresentou a maior concentração média de ST, com 27,7 g ST/L. Nos ensaios AOV4 e AOV5, as concentrações médias deste parâmetro foi de 23,4 g ST/L e 20,0 g ST/L, respetivamente. No que diz respeito à eficiência de remoção de ST (figura 3.2), nos ensaios AOV4 e AOV5 (56% e 59%, respetivamente), esta foi semelhante. Por outro lado, o ensaio FORSU apresentou a maior eficiência de remoção de ST com 63%.

No que diz respeito à concentração média de SV (tabela 3.2), o efluente do ensaio FORSU apresentou o maior valor (16,5 g SV/L). As concentrações médias de SV nos efluentes dos ensaios AOV4 e AOV5 (11,3 g SV/L e 10,1 g SV/L, respetivamente) foram semelhantes e inferiores ao registado no ensaio FORSU. A eficiência de remoção de SV (figura 3.2), nos três ensaios realizados, não apresentou qualquer alteração significativa. A natureza do substrato utilizado (FORSU ou substratos orgânicos provenientes de *dark fermentation*) não teve qualquer interferência no que diz respeito à remoção de SV.

Algapani et al. (2017) estudaram a valorização, por DA, do efluente de um biorreator fermentativo para a produção de bioH<sub>2</sub>, em condições mesófilas, com diferentes cargas volumétricas aplicadas de FORSU (2,9 g SV/(L.d) e 3,2 g SV/(L.d)). Estes autores registaram as seguintes eficiências de remoção de SV: 75% e 77% para cada uma das cargas orgânicas de 2,9 g SV/(L.d) e 3,2 g SV/(L.d), respetivamente. Estes resultados vão ao encontro dos resultados obtidos experimentalmente nos ensaios AOV4

e AOV5 que, em condições mesófilas e com cargas volumétricas aplicadas de 2,81 g SV/(L.d) e 2,56 g SV/(L.d), registraram eficiências de remoção de SV de 72% e 74%, respectivamente. Por outro lado, Chu et al. (2008) obtiveram uma eficiência de remoção de SV mais elevada (88%), para um ensaio de DA em dois estágios, em condições mesófilas, com uma carga volumétrica aplicada no segundo estágio de 6,6 g SV/(L.d).

Os resultados obtidos relativamente às eficiências de remoção ST e SV demonstram que a FORSU e os substratos orgânicos utilizados nos ensaios AOV4 e AOV5 (substratos ricos em AOVs) apresentaram o mesmo comportamento no que diz respeito à remoção de sólidos. As eficiências de remoção de SV nos ensaios AOV4 e AOV5 foram inferiores às do ensaio FORSU, uma vez que parte dos SV mais facilmente biodegradáveis terão sido removidos no digestor de *dark fermentation*, que se situava a montante do digestor metanogénico utilizado no presente estudo.

### 3.2.2.2. CQOt e CQOs

A eficiência de remoção da CQOt e CQOs, de cada um dos ensaios metanogénicos realizados, apresenta-se na figura 3.3.

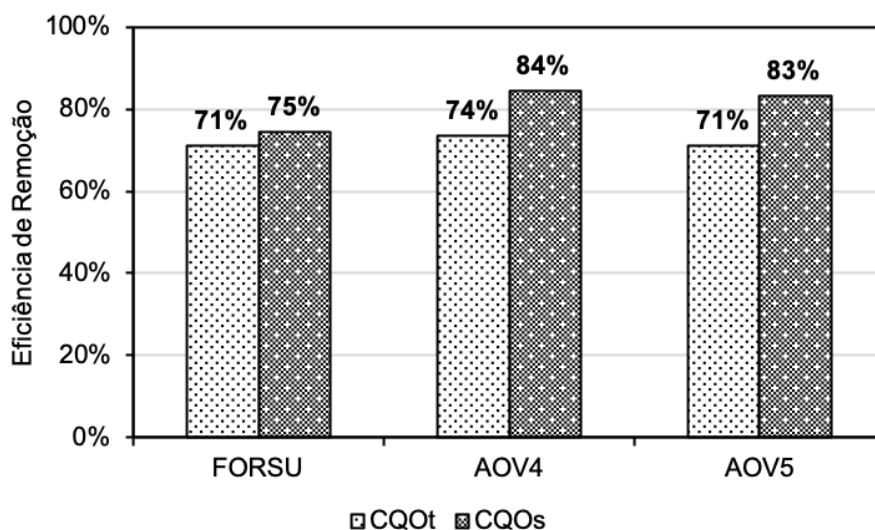


Figura 3.3. Eficiência de remoção da CQOt e CQOs de cada ensaio metanogénico.

A partir da análise da tabela 3.2, verifica-se que o efluente do ensaio FORSU apresenta uma concentração de CQOt de 29 g O<sub>2</sub>/L. Esta concentração foi ligeiramente superior às concentrações deste parâmetro nos ensaios AOV4 e AOV5, com 28 g O<sub>2</sub>/L e 22 g O<sub>2</sub>/L, respectivamente. A eficiência de remoção de CQOt nos três ensaios foi muito semelhante (figura 3.3), embora o ensaio AOV4 tenha apresentado a maior eficiência de remoção de CQOt (74%) comparativamente aos restantes ensaios (71% nos ensaios FORSU e AOV5).

As concentrações de CQOs, nos três efluentes, foram muito semelhantes (tabela 3.2). O efluente do ensaio FORSU apresentou um valor de 13 g O<sub>2</sub>/L de CQOs, enquanto que, nos ensaios AOV4 e AOV5, a concentração de CQOs foi de 10 g O<sub>2</sub>/L e 12 g O<sub>2</sub>/L, respectivamente. O afluente do ensaio AOV4 foi o que apresentou menores concentrações de CQOs. A eficiência de remoção de CQOs (figura 3.3), por

outro lado, é ligeiramente superior (em aproximadamente 10%), nos ensaios AOV4 e AOV5 comparativamente ao ensaio FORSU.

Conclui-se que a natureza do substrato orgânico utilizado como alimento afeta a eficiência da remoção de CQOs, verificando-se um aumento da eficiência de remoção deste parâmetro com a utilização de substratos orgânicos ricos em AOVs. Como já referido anteriormente, os efluentes de um biorreator fermentativo sofrem uma degradação da matéria orgânica em suspensão, podendo disponibilizar mais matéria orgânica dissolvida para o consórcio metanogénico.

A razão de biodegradabilidade permite aferir a disponibilidade de matéria orgânica nos afluentes e efluentes. Na figura 3.4 apresenta-se a razão de biodegradabilidade do afluente e efluente de cada ensaio assim como a respetiva redução de matéria orgânica.

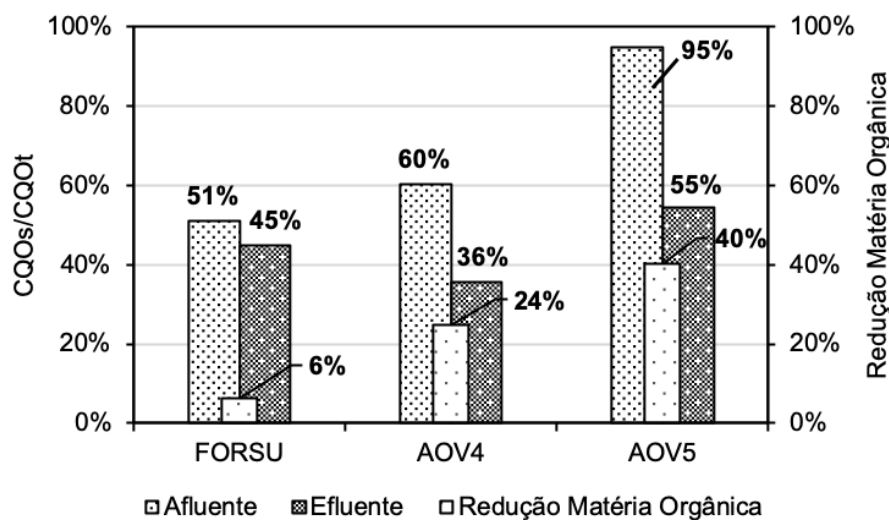


Figura 3.4. Razão de biodegradabilidade do afluente e efluente de cada ensaio e respetiva redução de matéria orgânica.

Verificou-se, a partir da análise da figura 3.4, que a razão de biodegradabilidade no afluente do ensaio FORSU foi de 51%, a qual foi a menor razão entre os afluentes dos ensaios realizados. A razão de biodegradabilidade do afluente do ensaio AVO4 e AOV5 foi de, 60% e 95%, respetivamente. Os afluentes dos ensaios AOV4 e AOV5 apresentam maiores razões de biodegradabilidade, uma vez que parte dos sólidos voláteis dos substratos orgânicos, utilizados nestes ensaios, já haviam sido solubilizados no biorreator de *dark fermentation*. No que diz respeito à razão de biodegradabilidade no efluente de cada ensaio, o efluente do ensaio AOV5 apresentou a maior razão de biodegradabilidade, cerca de 55%, comparativamente aos ensaios FORSU e AOV4 (45% e 36%, respetivamente).

Verificou-se, ainda, uma diminuição da razão de biodegradabilidade do afluente para o efluente nos três ensaios realizados. No ensaio FORSU ocorreu uma redução de 6% da matéria orgânica entre o afluente e o efluente, o que significa uma redução de 6% na proporção entre a matéria orgânica mais facilmente biodegradável (CQOs) relativamente à matéria orgânica total (CQOt). Por outro lado, nos casos dos ensaios AOV4 e AOV5 verificou-se uma maior redução de matéria orgânica entre o afluente



e o efluente. Nos ensaios AOV4 e AOV5 estas diferenças foram de cerca de 24% e 40%, respectivamente.

Os resultados obtidos, no que diz respeito à razão de biodegradabilidade, demonstram que os substratos orgânicos ricos em AOVs apresentam maiores disponibilidades de matéria orgânica comparativamente à FORSU.

### 3.2.2.3. Nutrientes

O Azoto é um macronutriente essencial aos microrganismos presentes no biorreator anaeróbio (Rajagopal et al., 2013). Contudo, quando se encontra presente em elevadas concentrações pode inibir o crescimento dos microrganismos.

A partir da análise da tabela 3.2, verificou-se que o efluente do ensaio AOV4 apresenta a maior concentração de *N-Kjeldahl* (2801 mg N/L) embora as concentrações desta espécie de azoto sejam muito semelhantes nos três efluentes. O efluente do ensaio AOV4 apresentou também a maior concentração de  $N-NH_4^+$  (2379 mg N/L) face à concentração no efluente do ensaio FORSU (1412 mg N/L) e do efluente do ensaio AOV5 (1823 mg N/L). No que diz respeito à concentração de N-Orgânico, o efluente do ensaio AOV5 foi o que apresentou a menor concentração, 417 mg N/L.

Na figura 3.5 apresenta-se a percentagem de  $N-NH_4^+$  relativamente ao *N-Kjeldahl* em cada um dos ensaios experimentais realizado.

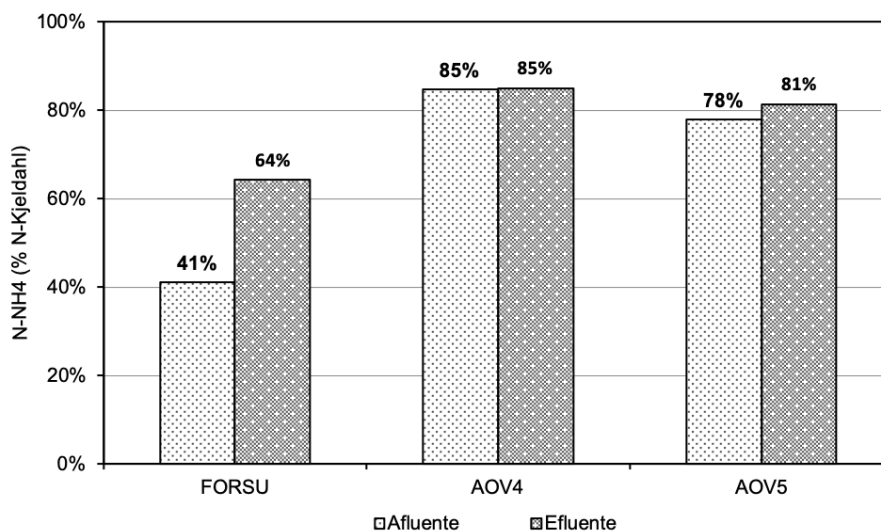


Figura 3.5. Percentagem de  $N-NH_4^+$  relativamente ao *N-Kjeldahl* do afluente e efluente de cada ensaio metanogénico.

Verificou-se (figura 3.5) que, no decorrer dos três ensaios experimentais, a percentagem de  $N-NH_4^+$  relativamente ao *N-Kjeldahl* aumentou do afluente para o efluente nos ensaios FORSU e AOV5 (23% e 4%, respetivamente). No ensaio AOV4, a proporção de  $N-NH_4^+$  relativamente ao *N-Kjeldahl* manteve-se igual. No efluente do ensaio FORSU, a percentagem de  $N-NH_4^+$  relativamente ao *N-Kjeldahl* foi de

64%, enquanto nos ensaios AOV4 e AOV5 a percentagem de  $N-NH_4^+$  relativamente ao  $N-Kjeldahl$  foi de 85% e 81%, respetivamente.

As concentrações de  $N-NH_4^+$ , registadas nos efluentes dos ensaios FORSU, AOV4 e AOV5 (tabela 3.2), encontram-se abaixo das concentrações que a bibliografia indica como concentrações inibidoras para a atividade metanogénica. Mccarty (1964) afirma que para concentrações superiores a 3000 mg N/L, este macronutriente inibe a atividade metanogénica. Por outro lado, Sung & Liu (2003) afirmam que a inibição da atividade metanogénica apenas ocorre para concentrações superiores a 4000 mg N/L. Este valor crítico é também reportado por Procházka et al. (2012). Conclui-se que não existiu qualquer tipo de inibição do crescimento microrganismos metanogénicos motivada pelo  $N-NH_4^+$ .

O **Fósforo** é um macronutriente essencial aos microrganismos metanogénicos (Gil et al., 2019). A concentração deste nutriente no efluente de cada ensaio, assim como a sua eficiência de remoção é apresentada na figura 3.6.

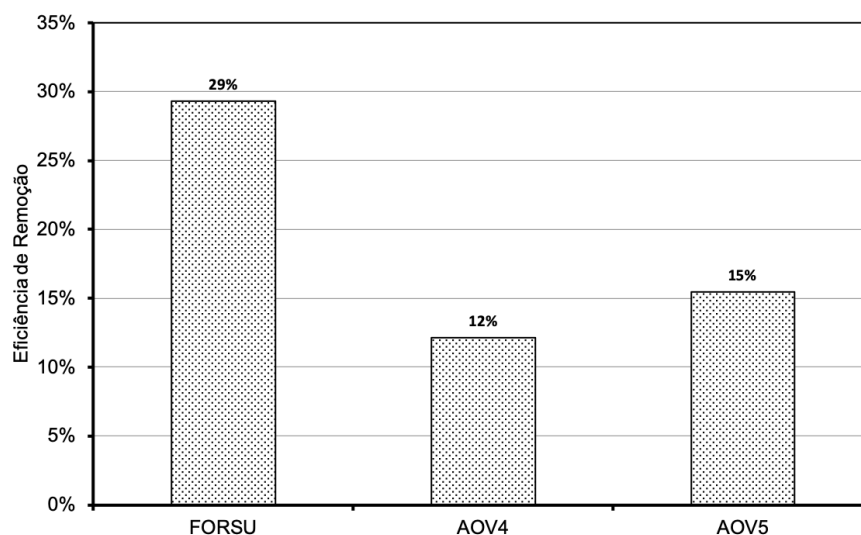


Figura 3.6. Eficiência de remoção do P de cada ensaio metanogénico.

Verificou-se, tabela 3.2, que o efluente do ensaio FORSU apresentou a maior concentração de P (243 mg N/L) comparativamente ao efluente dos ensaios AOV4 e AOV5 (58 mg P/L e 134 mg P/L, respetivamente). O ensaio FORSU foi também aquele que apresentou a maior eficiência de remoção deste nutriente (29%) (figura 3.6). Nos ensaios AOV4 e AOV5 a eficiência de remoção de P foi de 12% e 15%, respetivamente. A diminuição da concentração de P, ao longo do processo de metanogénese nos três ensaios, é justificada pela população de microrganismos que se fixou sobre os componentes rígidos do biorreator (paredes, sensores e tubagens).

As concentrações de P nos efluentes dos três ensaios realizados (tabela 3.2) encontram-se substancialmente acima do valor mínimo reportado por Gil et al. (2019), que os microrganismos anaeróbios requerem, cerca de 5-7 mg P/L. Ainda de acordo com o mesmo autor, o P torna-se inibidor para os microrganismos metanogénicos para concentrações superiores a 950 mg P/L, valor substancialmente superior às concentrações registadas nos três ensaios realizados. Assim, conclui-se que nos três

ensaios realizados não deverá ter ocorrido inibição da atividade metanogénica devido ao P. Mao et al. (2015) afirma que concentrações próximas de 465 mg P/L são estimulantes para os microrganismos. Esta concentração é superior aos valores registados nos efluentes dos três ensaios.

### 3.2.3. Avaliação da Estabilidade Metanogénica pelos AOVs

Os AOVs, em elevadas concentrações, são considerados inibidores da atividade metanogénica (Khan et al., 2016) e como tal, é importante a sua quantificação de modo a avaliar-se a interferência destes na estabilidade no processo metanogénico.

Na tabela 3.3 apresentam-se as concentrações de AOVs (ácido acético, ácido butírico e ácido propanoico) nos efluentes de cada ensaio. O ácido fórmico não foi detetado em nenhum dos efluentes dos ensaios experimentais (<5 mg/L). As concentrações dos AOVs no efluente dos ensaios foram muito próximas dos limites de deteção (tabela 3.3). O ácido acético foi registado apenas no ensaio FORSU e AOV4 (8 mg/L em ambos os efluentes), enquanto que o ácido butírico apenas foi registado no efluente do ensaio FORSU (41 mg/L). Por último, o ácido propanoico foi apenas registado nos ensaios FORSU e AOV4 (5 mg/L e 6 mg/L, respetivamente).

A figura 3.7 apresenta as eficiências de remoção de AOVs (ácido acético, ácido butírico e ácido propanoico) de cada ensaio metanogénico realizado.

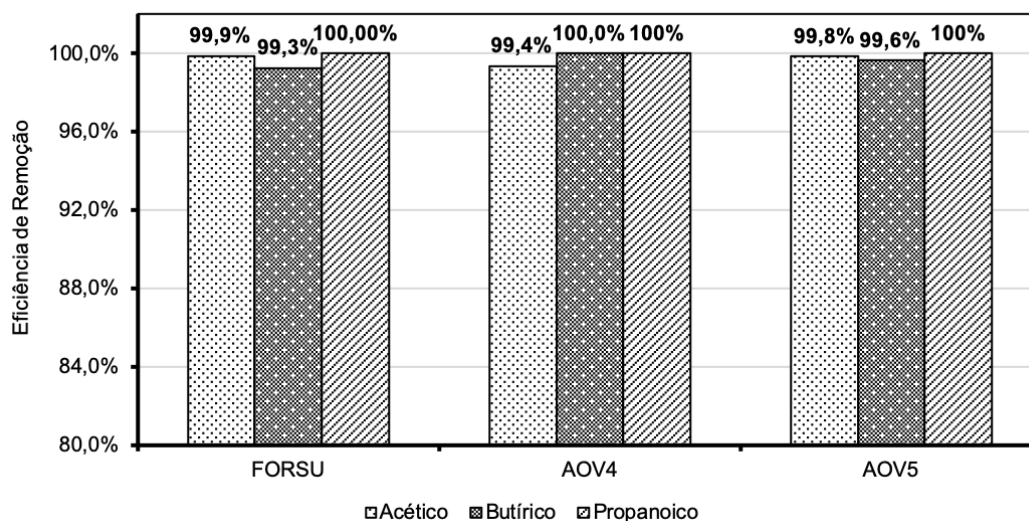


Figura 3.7. Eficiência de remoção de AOVs (ácido acético, ácido butírico e ácido propanoico) de cada ensaio metanogénico realizado.

A partir da análise da figura 3.7, verificou-se que a eficiência de remoção de ácido acético, ácido butírico e ácido propanoico, nos três ensaios, foi de praticamente 100%. Nos ensaios FORSU e AOV4 a eficiência de remoção de ácido acético foi de 99,9% e 99,4%, respetivamente, enquanto que, no ensaio AOV5, esta foi de 99,8%. No que diz respeito à eficiência de remoção de ácido butírico, no ensaio FORSU esta foi de 99,3%. Nos ensaios AOV4 e AOV5, esta eficiência foi de cerca de 100% e 99,6%, respetivamente. Por fim, a eficiência de remoção de ácido propanoico, nos três ensaios, foi de 100%.

Segundo Drosig (2013), concentrações de ácido acético superiores a 4000 mg/L têm como consequência a instabilidade do processo de DA, causando a inibição da metanogênese. Tendo em conta as concentrações de ácido acético registadas nos afluentes do biorreator durante os ensaios realizados (tabela 3.3), verificou-se que, nos ensaios FORSU e AOV4, estas concentrações foram substancialmente superiores, (em aproximadamente 2000 mg/L), à indicada por aquele autor. O que não aconteceu no ensaio AVO5, em que a concentração de ácido acético se encontrou abaixo do limite estabelecido.

Já na opinião de Deublein & Steinhauser (2008), apenas concentrações de ácido acético superiores a 6000 mg/L tornam o processo instável, limiar este que se encontra bastante próximo das concentrações registadas nos ensaios FORSU e AOV4 (tabela 3.3).

Tendo por base as concentrações-limite definidas por estes autores, seria de supor a ocorrência de instabilidade no processo metanogénico, em especial nos ensaios designados por FORSU e AOV4. Contudo, não foi evidente qualquer tipo de inibição em qualquer um dos três ensaios realizados, devido às concentrações elevadas de ácido acético. Este resultado vai ao encontro do limite estabelecido por Leslie Grady et al. (2011) que afirmam que, até concentrações de 10000 mg/L de ácido acético, a atividade metanogénica não sofre qualquer tipo de inibição. As elevadas eficiências de remoção de ácido acético registadas sustentam a ideia de que não existiu qualquer tipo de inibição em qualquer um dos três ensaios realizados.

No que diz respeito à concentração de ácido butírico, Drosig (2013) afirma que concentrações superiores a 50 mg/L são responsáveis por originar problemas de estabilidade da DA. Esta instabilidade pode originar a inibição da atividade metanogénica. As concentrações de ácido butírico nos afluentes dos três ensaios (tabela 3.3) foram significativamente superiores a este limite. Contudo, não foi óbvia qualquer instabilidade do processo metanogénico. Deublein & Steinhauser (2008) refere-se à mesma concentração como inibidora ou causadora de instabilidade para valores de pH inferiores a 7, o que não se verificou em nenhum dos ensaios realizados, em que o pH foi sempre superior a este valor (tabela 3.2).

Os resultados registados no presente trabalho (tabela 3.3) vão ao encontro dos valores de inibição que Leslie Grady et al. (2011) referem. Estes autores afirmam que para concentrações de ácido butírico até 10000 mg/L a atividade metanogénica não sofre qualquer tipo de inibição, o que é comprovado pelas elevadas eficiências de remoção de ácido butírico.

As concentrações de ácido propanoico, nos afluentes dos ensaios FORSU e AOV4 (tabela 3.3), foram superiores ao limite estabelecido por Drosig (2013) como inibidor (1000 mg/L). Este valor crítico é também reportado por Deublein & Steinhauser (2008). Apenas no afluente do ensaio AOV5 (tabela 3.3), a concentração deste ácido foi inferior ao limite crítico definido por aqueles autores.

As elevadas concentrações de ácido propanoico não parecem ter tido, todavia, qualquer problema na atividade metanogénica. Uma vez mais, os resultados obtidos no presente trabalho (tabela 3.3) parecem estar mais em linha com os trabalhos de Leslie Grady et al. (2011), os quais afirmam que o ácido propanoico apenas é inibidor da atividade metanogénica para concentrações superiores a 6000 mg/L.

Por fim, a estabilidade dos três ensaios realizados foi ainda confirmada pela razão ácido propanoico/ácido acético (AP/AA) do efluente, a qual foi de aproximadamente 0 para todos os ensaios.

Segundo Drogg (2013), se esta razão for superior a 1,4, o processo é considerado instável e potencialmente causador de inibição da atividade metanogénica, o que não se verificou em nenhum dos três ensaios.

Conclui-se, pela baixa concentração de AOVs (ácido acético, ácido, butírico e ácido propanoico), registada nos efluentes do biorreator, que não existiu inibição da atividade metanogénica, em nenhum dos ensaios experimentais. Apesar da presença destes ácidos em elevadas concentrações nos substratos orgânicos, eles foram consumidos pelos microrganismos metanogénicos presentes no biorreator, com uma elevada eficiência de conversão. Por outro lado, a presença de ácido acético em elevadas concentrações, em relação aos restantes ácidos, foi fundamental para manter a estabilidade do processo de conversão de AOVs em biogás.

A presença de elevadas concentrações de AOVs no substrato FORSU não permitiu concluir se os substratos particularmente ricos em AOVs (utilizados nos ensaios AOV4 e AOV5), produzidos num biorreator de *dark fermentation*, apresentam maiores eficiências de remoção de ácidos orgânicos dissolvidos ou se o processo de conversão destes ácidos em biogás é mais estável.

### 3.3. Análise Quantitativa e Qualitativa do Biogás

Os volumes acumulados de biogás são apresentados na figura 3.8 e encontram-se expressos nas condições de Pressão e Temperatura Ambiente Normais (PTAN) (25 °C e 1 atm).

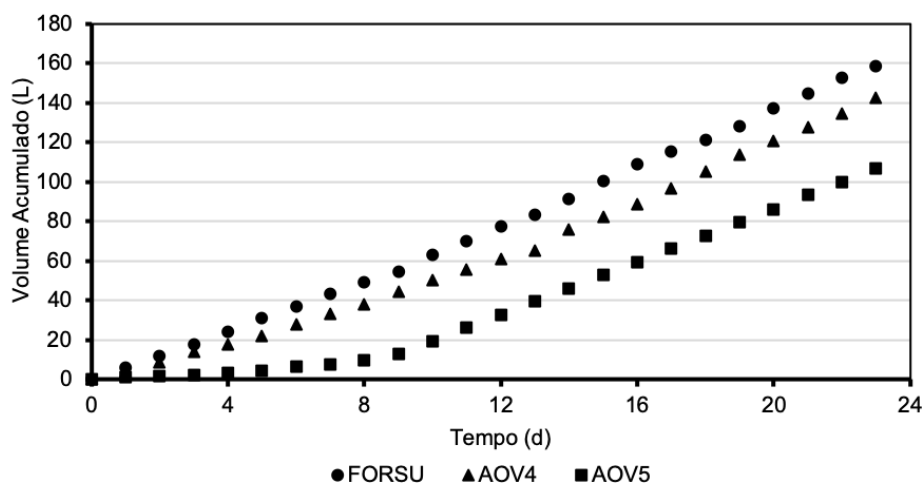


Figura 3.8. Volume acumulado de biogás obtido em cada ensaio, em condições PTAN.

No ensaio onde foi utilizado FORSU obteve-se o maior volume de biogás acumulado, ao longo de 23 dias de ensaio, com cerca de 158 L (figura 3.8). Nos ensaios AOV4 e AOV5, onde foi utilizado um afluente rico em AOVs, o volume de biogás acumulado foi de 143 L e 107 L, respetivamente, ao longo do mesmo tempo de ensaio. No ensaio FORSU, verificou-se que a estabilidade de produção de biogás foi iniciada ao nono dia de ensaio, enquanto que no ensaio AOV4 esta apenas foi alcançada ao fim de

13 dias. Já no ensaio AOV5, a estabilidade de produção de biogás foi iniciada ao nono dia de ensaio, tal como no ensaio FORSU.

Uma vez que os substratos utilizados nos três ensaios foram diferentes, causando uma variação de carga aplicada, a comparação dos três ensaios é mais correta quando se efetua o cálculo do volume de biogás acumulado em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator (figura 3.9).

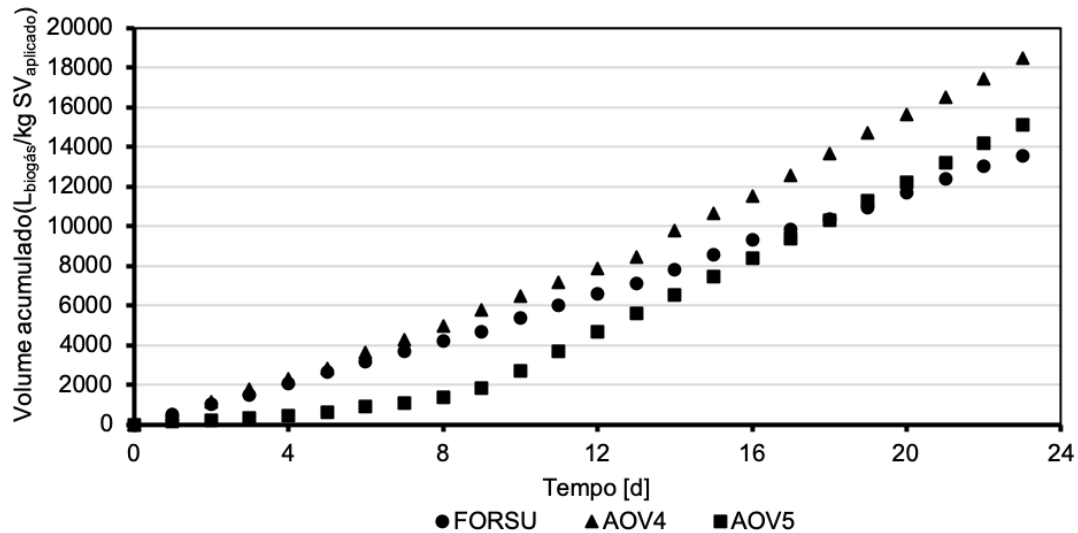


Figura 3.9. Volume acumulado de biogás em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator, em condições PTAN.

No ensaio AOV4 obteve-se o maior volume acumulado de biogás, em função da carga volúmica aplicada de SV, com 18467 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub> (figura 3.9). Este resultado foi superior ao alcançado nos ensaios FORSU e AOV5, com respetivamente, 13537 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub> e 15106 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub>. Ao se expressar o volume de biogás acumulado em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator, o ensaio FORSU, que anteriormente apresentou a maior produção de biogás acumulado, passou a ser o pior ensaio. Por outro lado, o ensaio AOV5 deixou de ser o ensaio com pior produção de biogás acumulado, passando a ser melhor do que o ensaio FORSU, mas ainda assim pior que o ensaio AOV4.

Conclui-se, assim, que os ensaios em que se utilizou substratos orgânicos ricos em AOVs (ensaios AOV4 e AOV5) apresentaram as maiores produções de biogás em função da carga volúmica de SV aplicada, em comparação com o ensaio em que se usou a FORSU. Resultados similares já haviam sido obtidos por Braguglia et al. (2018), que afirmam que os substratos ricos em AOVs, como é o caso dos substratos provenientes de processos de acidogénese e acetogénese, aumentam a atividade dos microrganismos metanogénicos, com conseqüente aumento da produção de biogás.

A composição do biogás produzido em cada ensaio é apresentada na tabela 3.5.

Tabela 3.5. Composição do biogás produzido em cada ensaio, em condições PTAN.

<b>Ensaio</b>	<b>CH<sub>4</sub></b> <b>(% v/v)</b>	<b>CO<sub>2</sub></b> <b>(% v/v)</b>	<b>CO</b> <b>(ppmv)</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b> <b>(ppmv)</b>
FORSU	50,4	49,6	24	935
AOV4	73,1	26,9	24	260
AOV5	69,5	30,5	49	450

De entre os três ensaios experimentais, o ensaio AOV4 apresentou a maior concentração de CH<sub>4</sub> (73,1% v/v) e a menor concentração de CO<sub>2</sub> (26,9% v/v) (tabela 3.5). Por outro lado, o ensaio FORSU apresentou a menor concentração de CH<sub>4</sub> (50,4% v/v) e a maior concentração de CO<sub>2</sub> (49,6% v/v). Este ensaio apresentou também a maior concentração de H<sub>2</sub>S (935 ppmv), enquanto os ensaios AOV4 e AOV5 apresentaram concentrações deste composto de apenas 260 ppmv e 450 ppmv, respectivamente. Verificou-se que a menor concentração de H<sub>2</sub>S foi registada no ensaio AOV4, assim como a concentração mais baixa de CO (24 ppmv).

Segundo El-Mashad & Zhang (2010), a concentração de CH<sub>4</sub> no biogás, resultante da DA de FORSU, varia entre 49-54% v/v. A mesma variação de concentração de CH<sub>4</sub> foi reportada por Yang et al. (2015). A concentração de CH<sub>4</sub>, do ensaio FORSU, foi de 50,4% v/v, encontrando-se este valor dentro do intervalo referido por aqueles autores.

Algapani et al. (2017) estudaram a valorização, por DA, do efluente de um biorreator fermentativo para a produção de bioH<sub>2</sub>, a partir de FORSU, em condições mesófilas, com diferentes cargas volumétricas aplicadas (2,9 g SV/(L.d) e 3,2 g SV/(L.d)). Estes autores obtiveram concentrações de CH<sub>4</sub> de 65% v/v e 70% v/v, respetivamente. Os resultados obtidos experimentalmente nos ensaios AOV4 e AOV5, em condições mesófilas, com cargas volumétricas aplicadas de 2,81 g SV/(L.d) e 2,56 g SV/(L.d), respetivamente, indicam concentrações de CH<sub>4</sub> (73,1% v/v e 69,5% v/v, respetivamente) superiores às reportadas por aqueles autores.

Chu et al. (2008) afirma que a concentração de CH<sub>4</sub>, obtida através do processo de DA do efluente de um biorreator fermentativo para a produção de bioH<sub>2</sub>, a partir de FORSU, varia entre 70-80% v/v. Os resultados obtidos no presente trabalho encontram-se dentro do intervalo, mas próximo do limite inferior, reportado por estes autores.

Em suma, verificou-se que a natureza do substrato utilizado como afluente afetou não só a quantidade de biogás produzida, mas também a sua qualidade. Concluiu-se que os ensaios que utilizaram substratos ricos em AOVs (ensaio AOV4 e AOV5) apresentaram maiores concentrações de CH<sub>4</sub>.

### 3.4. Rendimentos de Produção de Biogás e Metano

A figura 3.10 apresenta os resultados dos rendimentos de biogás e metano, em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator, para os três ensaios realizados.

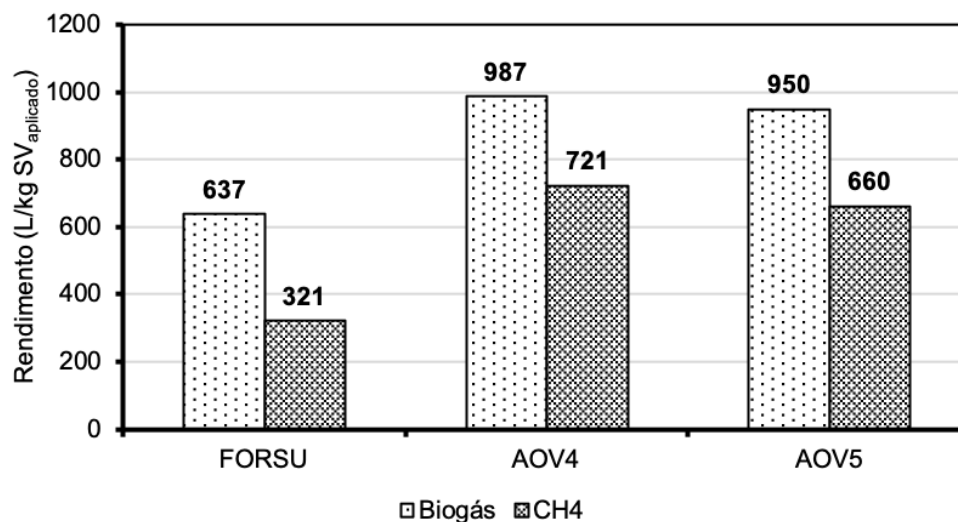


Figura 3.10. Rendimentos de biogás e metano em função da carga volúmica aplicada de SV, em condições PTAN.

Verificou-se, pela análise da figura 3.10, que os ensaios AOV4 e AOV5 não apresentam diferenças acentuadas no que diz respeito aos rendimentos de produção de biogás e CH<sub>4</sub>. Ainda assim, o ensaio AOV4 foi o que apresentou valores de rendimentos de produção de biogás e CH<sub>4</sub> ligeiramente superiores ao AOV5. Os ensaios com AOVs contrastam como o ensaio com FORSU, que apresentou os menores rendimentos de produção de biogás e metano.

El-Mashad & Zhang (2010) estudaram a DA de FORSU, em condições mesófilas, tendo obtido os seguintes resultados, para os rendimentos de produção de biogás e CH<sub>4</sub>: 520 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub> e 256 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>, respectivamente. Estes resultados foram inferiores em 15,4% e 20,3% aos rendimentos de produção de biogás e CH<sub>4</sub>, respectivamente, para o ensaio com FORSU realizado no presente trabalho. Os rendimentos de produção de biogás e CH<sub>4</sub> dos ensaios AOV4 e AOV5 foram significativamente maiores do que os rendimentos reportados por estes autores, em 89,8% e 181% para os rendimentos de biogás e CH<sub>4</sub>, respectivamente, relativamente ao ensaio AOV4, e 82,6% e 157% para os rendimentos de biogás e CH<sub>4</sub>, respectivamente, relativamente ao ensaio AOV5.

Nielfa et al. (2015) documentaram um estudo da DA de FORSU, em condições mesófilas, tendo obtido para rendimento de produção de CH<sub>4</sub>, o valor de 202 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>. O rendimento de produção de CH<sub>4</sub> no ensaio FORSU foi cerca de 37% superior ao documentado pelos autores, enquanto que, nos ensaios AOV4 e AOV5, o rendimento de produção de CH<sub>4</sub> foi superior em 257% e 227%, respectivamente.

Chu et al. (2008) obtiveram um rendimento de produção de CH<sub>4</sub> de 464 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>, para um ensaio de DA, em condições mesófilas, a partir do efluente de um biorreator fermentativo para a



produção de bioH<sub>2</sub>, utilizando FORSU como substrato inicial. Este valor é superior em 44,5% ao obtido no ensaio FORSU do presente trabalho. Os resultados obtidos no ensaio AOV4 e AOV5 foram cerca de 55,4% e 42,0% superiores, respetivamente, ao reportado por estes autores.

Algapani et al. (2017) estudaram a valorização, por DA, do efluente de um biorreator fermentativo para a produção de bioH<sub>2</sub>, a partir de FORSU, em condições mesófilas, para diferentes cargas volumétricas aplicadas. Para as cargas volumétricas de 2,9 g SV/(L.d), 3,2 g SV/(L.d) e 4,1 g SV/(L.d), obtiveram os seguintes rendimentos de produção de CH<sub>4</sub>: 519 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>, 526 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub> e 456 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>, respetivamente. Estes valores são 62%, 64% e 42% superiores aos valores obtidos no ensaio de FORSU do presente trabalho. No que diz respeito ao ensaio AOV4, estes são 39%, 37% e 58% inferiores, respetivamente, aos valores obtidos no presente trabalho. O ensaio AOV5 apresentou valores 27%, 25% e 45% superiores, respetivamente, ao reportado por estes autores.

Concluiu-se que os ensaios que utilizaram um afluente rico em AOVs (ensaios AOV4 e AOV5) apresentam melhores rendimentos de produção de biogás e metano em comparação com o ensaio que utilizou a FORSU como substrato orgânico. Esta observação pode ser justificada pelo fato da matéria orgânica presente nos efluentes dos bioreatores fermentativos já ter sofrido uma degradação prévia, encontrando-se em formas mais simples e acessíveis para serem assimiladas pelos microrganismos metanogénicos.

De modo similar ao que foi registado no presente trabalho, Grimberg et al. (2014) reportam que o rendimento de produção de metano é superior no caso da DA de efluentes de biorreatores fermentativos para a produção de bioH<sub>2</sub>, a partir de FORSU, em comparação com a DA de FORSU. Também Braguglia et al. (2018) afirmam que a DA de substratos ricos em AOVs aumenta a atividade dos microrganismos metanogénicos, com o conseqüente aumento da produção de biogás.

### **3.5. Potencial Energético do Biogás**

A utilização mais comum do biogás, produzido através de metanogénese, é a produção de energia elétrica.

Os maiores potenciais de produção de energia elétrica (figura 3.11) foram registados nos ensaios que utilizaram substratos ricos em AOVs (ensaios AOV4 e AOV5). Nestes ensaios, o potencial de produção de energia elétrica foi de, respetivamente, 7,3 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub> e 6,7 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>, enquanto que, no ensaio com FORSU, foi de apenas 3,2 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>. O ensaio AOV4 registou o maior potencial de produção energia elétrica.

Grimberg et al. (2014) documentaram o estudo da DA de FORSU, em condições mesófilas, obtendo um potencial de energia elétrica de 4,5 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>. Este potencial de energia elétrica foi superior, em 41%, ao registado no ensaio com FORSU, enquanto que nos ensaios com AOV4 e AOV5 o valor indicado pelos autores foi 62% e 49% inferior, respetivamente.

A figura 3.11 apresenta, o potencial de produção de energia elétrica em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator, para cada ensaio.

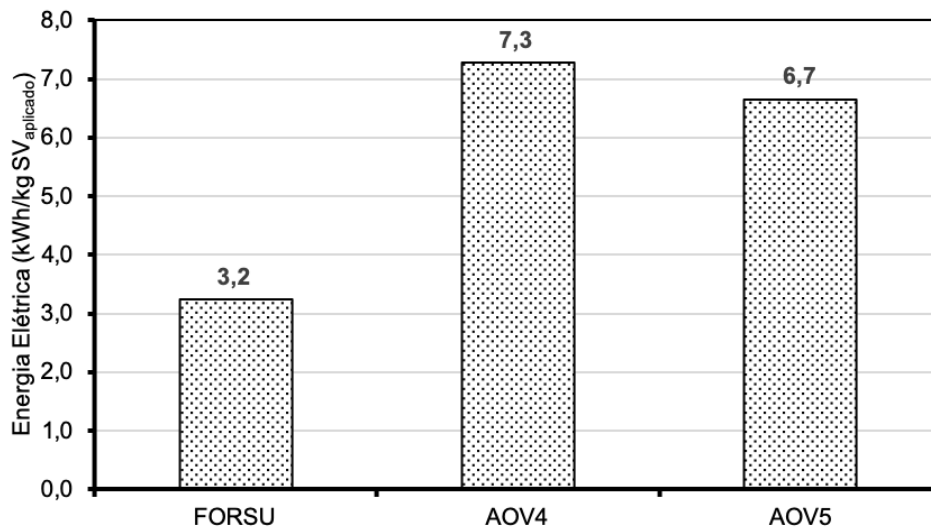


Figura 3.11. Potencial de produção de energia elétrica em função da carga volúmica de SV aplicada ao biorreator para cada ensaio.

Wang & Zhao (2009) estudaram a DA de FORSU, em dois estágios, em condições mesofílicas, com uma carga volúmica aplicada ao segundo estágio de 2,94 g SV/(L.d), tendo obtido um potencial de produção de energia elétrica de 4,0 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>. Este valor foi superior em 25% ao obtido no ensaio com FORSU do presente trabalho, enquanto que os resultados obtidos nos ensaios AOV4 e AOV5 foram cerca de 83% e 68% superiores, respetivamente, ao reportado por aqueles autores.

Conclui-se, assim, que os ensaios que utilizaram substratos orgânicos ricos em AOVs (ensaio AOV4 e AOV5) apresentam melhores potenciais de produção de energia elétrica, quando comparados com o potencial do ensaio que utilizou a FORSU. Os resultados obtidos nos ensaios AOV4 e AOV5 do presente estudo foram também significativamente melhores dos que estão disponíveis na bibliografia.

### 3.6. Comparação dos Principais Resultados com a Bibliografia

A tabela 3.6 apresenta os principais resultados do presente estudo e a respetiva comparação com a bibliografia.

De um modo geral, verificou-se que, os ensaios que utilizaram FORSU como substrato orgânico, apresentam menores rendimentos de produção de metano assim como menores potenciais energéticos do biogás, comparativamente aos ensaios que utilizaram um substrato rico em AOVs. No presente estudo, verificou-se o mesmo comportamento, uma vez que os ensaios realizados com um substrato rico em AOVs apresentou melhores rendimentos de produção de metano e maiores potenciais energéticos do biogás comparativamente ao ensaio em que se usou FORSU como substrato.

Os resultados obtidos no ensaio com FORSU, do presente estudo, não foram particularmente satisfatórios quando comparados com outros ensaios disponíveis na bibliografia, que utilizaram FORSU como

substrato. Neste ensaio obteve-se uma concentração de metano 16% inferior, um rendimento de produção de metano 18% inferior e um potencial energético do biogás 41% inferior ao estudo que apresentou os melhores resultados (Grimberg et al., 2014).

Por outro lado, os ensaios que utilizaram um substrato rico em AOVs foram muitos satisfatórios em comparação com os resultados encontrados na bibliografia, em particular, os rendimentos de produção de metano e o potencial energético do biogás. No ensaio AOV4 obteve-se uma concentração de metano 8% superior, um rendimento de produção de metano 32% superior e um potencial energético do biogás 33% superior ao estudo que apresentou os melhores resultados na bibliografia Wang & Zhao (2009).

Em suma, o ensaio AOV4 foi o ensaio que apresentou melhores resultados no presente estudo, nomeadamente, maior concentração de metano (73,1% v/v), maior rendimento de produção de biogás (721 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>) e maior potencial energético do biogás (7,3 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>) para uma carga volúmica aplicada de 2,81 g SV/(L.d

Tabela 3.6. Comparação dos principais resultados do presente estudo com a bibliografia.

<b>Substrato</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Carga Volúmica aplicada (g SV/(L.d))</b>	<b>Concentração de metano (% v/v)</b>	<b>Rendimento de produção de metano (L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicado</sub>)</b>	<b>Potencial energético do biogás (kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>)</b>	<b>Referências</b>
FORSU	37	4,25	50,4	321	3,2	Presente estudo
AOV4	37	2,81	73,1	721	7,3	Presente estudo
AOV5	37	2,56	69,5	660	6,7	Presente estudo
FORSU	35	2	49	256	2,57	(El-Mashad & Zhang, 2010)
FORSU	37	3,79	58,5	380	4,5	(Grimberg et al., 2014)
FORSU	35	7	-	405	-	(Zhang et al., 2013)
FORSU	37	9,2	-	455	-	(Nagao et al., 2012)
AOVs	40	2,94	71,4	551	4,0	(Wang & Zhao, 2009)
AOVs	35	3,2	70,1	526	5,30	(Algapani et al., 2018)
AOVs	40	4,61	67,5	546	5,50	(Wang & Zhao, 2009)
AOVs	35	6,6	70	464	4,68	(Chu et al., 2008)

# 4

## Conclusões e Sugestões de Trabalho Futuro

A caracterização dos substratos orgânicos, nomeadamente, a caracterização físico-química, a quantificação da concentração de AOVs e a análise elementar, permitiu concluir que a sua composição é influenciada pelo momento da colheita e pela variabilidade na unidade industrial da ETVO-Valorsul.

A FORSU apresentou uma concentração de ST e SV superior, em 42% e 50%, respetivamente, à concentração nos substratos orgânicos ricos em AOVs. No que diz respeito à CQO, verificou-se que os afluentes ricos em AOVs apresentaram uma maior razão CQOs/CQOt do que a FORSU (61% no afluente do ensaio AOV4, 95% no afluente do ensaio AOV5 e 51% no afluente do ensaio FORSU). A concentração de  $N-NH_4^+$  foi substancialmente superior nos substratos ricos em AOVs. Contudo, os resultados obtidos encontram-se dentro dos intervalos reportados na literatura.

A quantificação da concentração de AOVs não demonstrou diferenças entre os três substratos orgânicos utilizados como afluentes, uma vez que as concentrações de AOVs foram muito elevadas, tanto no afluente de FORSU como nos afluentes ricos em AOVs. A elevada concentração de AOVs na FORSU é justificada pela retenção dos resíduos sólidos na unidade da ETVO-Valorsul, antes do seu processamento para a produção de biogás.

A análise das eficiências de remoção de sólidos e da CQO nos três ensaios permitiu concluir que, em todos eles, não existiu qualquer instabilidade no processo de metanogénese. As elevadas eficiências de remoção de sólidos e de CQO sustentam a afirmação anterior. De salientar que a eficiência de remoção de ST, no ensaio FORSU, foi superior em 13% e 7% à registada nos ensaios AOV4 e AOV5, respetivamente. A eficiência de remoção de CQOs, nos ensaios AOV4 e AOV5 (84% e 83%, respetivamente) foi 10% superior à do ensaio FORSU.

Concluiu-se que a estabilidade metanogénica não foi afetada pelas elevadas concentrações de AOVs presentes nos substratos orgânicos. As elevadas eficiências de remoção (>99%) dos diferentes AOVs (ácido acético, ácido butírico e ácido propanoico), nos três ensaios, sustentam a afirmação anterior.

A maior concentração de metano, registada na composição do biogás nos ensaios que utilizaram um afluente rico em AOVs, permitiu concluir que a utilização deste tipo de substrato orgânico para a

produção de biogás melhora a sua qualidade. A concentração de metano, no ensaio FORSU, foi de 50,4% v/v, o que representa um valor inferior a 45% da concentração registada no ensaio AOV4 e 38% da registada no ensaio AOV5.

Os ensaios AOV4 e AOV5 apresentaram um melhor desempenho de conversão do substrato orgânico em biogás e, conseqüentemente, metano. O ensaio FORSU apresentou um rendimento de produção de biogás e metano de 637 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub> e 321 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub>, respetivamente. Estes valores são inferiores aos valores obtidos no ensaio AOV4, em 52% e 125% para o biogás e metano, respetivamente.

O cálculo do potencial de produção de energia elétrica permitiu concluir que os ensaios que utilizaram um afluente rico em AOVs apresentaram um maior potencial de produção a energia elétrica a partir da utilização do biogás produzido. O ensaio AOV4 apresentou um potencial de produção de energia elétrica de 7,3 kWh/kg SV<sub>aplicado</sub>, valor este que é superior em 8,9% ao potencial do ensaio AOV5 e 128% ao do ensaio FORSU.

Em suma, o ensaio AOV4, com uma carga volúmica aplicada de 2,81 g SV/(L.d), apresentou os melhores rendimentos de produção de biogás e metano (987 L<sub>biogás</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub> e 721 L<sub>metano</sub>/kg SV<sub>aplicados</sub>). Este ensaio apresentou ainda a maior concentração de metano no biogás (73,1 % v/v) e o maior potencial de produção de energia elétrica (7,3 kWh/kg SV<sub>aplicados</sub>).

De um modo geral, conclui-se que a utilização de substratos ricos em AOVs permite obter maiores rendimentos de produção de biogás e metano, assim como um maior potencial energético no biogás.

Após a realização do presente estudo e análise dos resultados obtidos, destacam-se os seguintes tópicos como sugestão para trabalhos futuros:

- Estudo da metanogénese de substratos ricos em AOVs, com diferentes cargas volúmicas aplicadas, produzidos por *dark fermentation*, a partir de FORSU;
- Estudo do balanço económico e energético da valorização de substratos ricos em AOVs produzidos por *dark fermentation*, a partir de FORSU;
- Estudo da adição de *biochar* na metanogénese de substratos ricos em AOVs produzidos por *dark fermentation*, a partir de FORSU.

## Referências Bibliográficas

- Abbasi, T., Tauseef, S. M., & Abbasi, S. A. (2012). Anaerobic digestion for global warming control and energy generation — An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *16*, 3228–3242. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.02.046>
- Akunna, J. C. (2015). Anaerobic treatment of brewery wastes. In *Brewing Microbiology* (pp. 407–424). Dundee.
- Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., & Janssen, R. (2008). *biogas Handbook*. Esbjerg.
- Algapani, D. E., Qiao, W., di Pumpo, F., Bianchi, D., Wandera, S. M., Adani, F., & Dong, R. (2018). Long-term bio-H<sub>2</sub> and bio-CH<sub>4</sub> production from food waste in a continuous two-stage system: Energy efficiency and conversion pathways. *Bioresource Technology*, *248*, 204–213. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.164>
- Algapani, D. E., Qiao, W., Ricci, M., Bianchi, D., M. Wandera, S., Adani, F., ... Dong, R. (2019). Bio-hydrogen and bio-methane production from food waste in a two-stage anaerobic digestion process with digestate recirculation. *Renewable Energy*, *130*, 1108–1115. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.08.079>
- APA. (2018). *Resíduos Urbanos: Relatório Anual de 2017*. Lisboa.
- APHA, AWWA, WEF; 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, *34*, 755–781. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Atasoy, M., Owusu-Agyeman, I., Plaza, E., & Cetecioglu, Z. (2018). Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges. *Bioresource Technology*, *268*, 773–786. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.042>
- Benemann, J. R. (1998). *The technology of biohydrogen*. BioHydrogen. California.
- Bernat, K., Cydzik-kwiatkowska, A., Zieli, M., Wojnowska-bary, I., & Wersocka, J. (2019). Valorisation of the selectively collected organic fractions of municipal solid waste in anaerobic digestion. *Biochemical Engineering Journal*, *148*, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.05.003>
- Braguglia, C. M., Gallipoli, A., Gianico, A., & Pagliaccia, P. (2018). Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review. *Bioresource Technology*, *248*, 37–56.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.145>

- Cheng, J., Ding, L., Lin, R., Yue, L., Liu, J., Zhou, J., & Cen, K. (2016). Fermentative biohydrogen and biomethane co-production from mixture of food waste and sewage sludge: Effects of physiochemical properties and mix ratios on fermentation performance. *Applied Energy*, *184*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.10.003>
- Chu, C. F., Li, Y. Y., Xu, K. Q., Ebie, Y., Inamori, Y., & Kong, H. N. (2008). A pH- and temperature-phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, *33*(18), 4739–4746. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.060>
- Comissão Europeia. (2011). *Roteiro para a Energia 2050*. Bruxelas.
- Dareioti, M. A., & Kornaros, M. (2014). Effect of hydraulic retention time (HRT) on the anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes in a two-stage CSTR system. *Bioresource Technology*, *167*, 407–415. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.045>
- Das, D. (2009). Advances in biohydrogen production processes: An approach towards commercialization. *International Journal of Hydrogen Energy*, *34*, 7349–7357. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.12.013>
- Das, D., Khanna, N., & Nag, C. (2014). *Biohydrogen Production*. Boca Raton.
- De Gioannis, G., Muntoni, A., Poletini, A., Pomi, R., & Spiga, D. (2017). Energy recovery from one- and two-stage anaerobic digestion of food waste. *Waste Management*, *68*, 595–602. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.013>
- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2008). *Biogas from Waste and Renewable Resources*. Mörlenbach.
- DGEG. (2018). Caraterização Energética Nacional. Retrieved July 22, 2019, from <http://www.dgeg.gov.pt/pagina.aspx?js=0&codigono=676890399040AAAAAAAAAAAAAA> [Acesso: 25-07-2019]
- Drosg, B. (2013). Process monitoring in biogas plants. *IEA Bioenergy Task*.
- El-Mashad, H. M., & Zhang, R. (2010). Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology*, *101*, 4021–4028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.027>
- Enzmann, F., Mayer, F., Rother, M., & Holtmann, D. (2018). Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. *AMB Express*, *8*, 22. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0531-x>
- Ferreira, L. (2008). *Contribuição para o estudo da modelação da digestão anaeróbia de resíduos sólidos, estudo da influência da geometria do reactor na cinética do processo*.
- Fisgativa, H., Tremier, A., & Dabert, P. (2016). Characterizing the variability of food waste quality: A need for efficient valorisation through anaerobic digestion. *Waste Management*, *50*, 264–274. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.041>
- Gebreeyessus, G., & Jenicek, P. (2016). Thermophilic versus Mesophilic Anaerobic Digestion of Sewage Sludge: A Comparative Review. *Bioengineering*, *3*(2), 15. <https://doi.org/10.3390/bioengineering3020015>
- Ghidotti, M., Fabbri, D., Torri, C., & Piccinini, S. (2018). Determination of volatile fatty acids in digestate by solvent extraction with dimethyl carbonate and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, *1034*, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.082>
- Ghimire, A., Frunzo, L., Pontoni, L., d'Antonio, G., Lens, P. N. L., Esposito, G., & Pirozzi, F. (2015). Dark fermentation of complex waste biomass for biohydrogen production by pretreated thermophilic anaerobic digestate. *Journal of Environmental Management*, *152*, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.049>
- Gil, A., Siles, J. A., Serrano, A., Chica, A. F., & Mart, M. A. (2019). Effect of Variation in the C / N / P Ratio on Anaerobic Digestion. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, *38*, 228–236. <https://doi.org/10.1002/ep.12922>



- Gou, C., Yang, Z., Huang, J., Wang, H., Xu, H., & Wang, L. (2014). Effects of temperature and organic loading rate on the performance and microbial community of anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste. *Chemosphere*, *105*, 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.018>
- Gould, M. C. (2015). Bioenergy and Anaerobic Digestion. In *Bioenergy* (pp. 297–317). Michigan. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407909-0.00018-3>
- Grimberg, S. J., Hilderbrandt, D., Kinnunen, M., & Rogers, S. (2014). Anaerobic digestion of food waste through the operation of a mesophilic two-phase pilot scale digester – Assessment of variable loadings on system performance. *Bioresource Technology*, *178*, 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.001>
- He, B. B., & Liu, Z. (2018). Physicochemical Properties of Biofuels. In *Biofuels Production and Processing Technology* (pp. 101–127). Omu-Aran.
- Hobson, P. N., & Shaw, B. G. (1976). Inhibition of methane production by methanobacterium formicicum. *Water Research*, *10*(1968), 849–852.
- Hoornweg, D., & Bhada-Tata, P. (2012, March). What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management. *Urban Development Series Knowledge Papers*, *15*, 116. <https://doi.org/10.1111/febs.13058>
- ISO, 1984, Water Quality - Determination of Kjeldahl Nitrogen: ISO 5663:1984. ISO.
- ISO, 1984, Water Quality - Determination of Ammonium: ISO 5664:1984. ISO.
- ISO, 2004, Water Quality - Determination of Phosphorus: ISO 6878:2004. ISO.
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., & Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology*, *143*, 525–530. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.025>
- Khan, M. A., Ngo, H. H., Guo, W. S., Liu, Y., Nghiem, L. D., Hai, F. I., ... Wu, Y. (2016). Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, *219*, 738–748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.073>
- Kim, M. S., Kim, D. H., & Yun, Y. M. (2017). Effect of operation temperature on anaerobic digestion of food waste: Performance and microbial analysis. *Fuel*, *209*, 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.08.033>
- Krishna, D., & Kalamdhad, A. S. (2014). Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production - A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *2*(3), 1821–1830. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.07.024>
- Labatut, R. A. (2018). *Chapter 4 - Sustainable Waste-to-Energy Technologies: Anaerobic Digestion*. New York.
- Lapa, N., Surra, E., Esteves, I. A. A. C., Ribeiro, R. P. P. L., & Mota, J. P. B. (2018). Production of Biogas and bioH<sub>2</sub>: Biochemical Methods. In *Biofuels Production and Processing Technology* (pp. 415–460). Boca Raton, London, New York.
- Lauterbock, B., Ortner, M., Haider, R., & Fuchs, W. (2012). Counteracting ammonia inhibition in anaerobic digestion by removal with a hollow fiber membrane contactor. *Water Research*, *46*, 4861–4869. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.022>
- Leslie Grady, C., Daigger, G., Love, N., & Filipe, C. (2011). *Biological Wastewater Treatment* (Third). CRC Press Taylor & Francis.
- Li, L., Peng, X., Wang, X., & Wu, D. (2018). Anaerobic digestion of food waste: A review focusing on process stability. *Bioresource Technology*, *248*(174), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.012>
- Li, Yangyang, Jin, Y., Borrion, A., Li, H., & Li, J. (2017). Effects of organic composition on mesophilic anaerobic digestion of food waste. *Bioresource Technology*, *244*, 213–224.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.006>

- Li, YuQian, Liu, C., Wachemo, A. C., & Li, X. (2018). Effects of liquid fraction of digestate recirculation on system performance and microbial community structure during serial anaerobic digestion of completely stirred tank reactors for corn stover. *Energy*, *160*, 309–317. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.06.082>
- Liu, X., Khalid, H., Amin, F. R., Ma, X., Li, X., Chen, C., & Liu, G. (2018). Effects of hydraulic retention time on anaerobic digestion performance of food waste to produce methane as a biofuel. *Environmental Technology and Innovation*, *11*, 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.06.004>
- Ma, A. Y. M., Cheung, B. K. W., Kwok, K. C. M., Cai, M., & Lee, P. K. H. (2016). Recent Advances of Anaerobic Digestion for Energy Recovery. In *Recycling of Solid Wastes for Biofuels and Biochemicals* (pp. 87–126). Hong Kong.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *45*, 540–555. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>
- Mccarty, P. L. (1964, November). Anaerobic Waste Treatment Fundamentals - Part Three: Toxic materials and their control. *PUBLIC WORKS*, 91–94.
- Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., & Wang, L. B. (2018). A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *15*, 16. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>
- Melville, L., Weger, A., Wiesgickl, S., & Franke, M. (2014). Anaerobic Digestion Stages. In *The Microbiology of Anaerobic Digesters* (pp. 51–57). Hoboken, NJ, USA. <https://doi.org/10.1002/0471468967.ch7>
- Micolucci, F., Gottardo, M., Pavan, P., Cavinato, C., & Bolzonella, D. (2018). Pilot scale comparison of single and double-stage thermophilic anaerobic digestion of food waste. *Journal of Cleaner Production*, *171*, 1376–1385. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.080>
- Ministério da Economia. (2010). Decreto-Lei nº 141/2010. *Diário Da República*, *1.ª Série*, 6.
- Ministros, R. de C. de. (2013). *Plano Nacional de Acção para as Energias Renováveis ao abrigo da Directiva 2009/28/CE*. Lisboa. Retrieved from <http://www.ap2h2.pt/download.php?id=27> [Acesso: 21-07-2019]
- Mitzlaff, K. Von. (1988). *Engines for biogas*. Eschborn.
- Molino, A., Nanna, F., Ding, Y., Bikson, B., & Braccio, G. (2013). Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. *Fuel*, *103*, 1003–1009. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.07.070>
- Nagao, N., Tajima, N., Kawai, M., Niwa, C., Kurosawa, N., Matsuyama, T., ... Toda, T. (2012). Maximum organic loading rate for the single-stage wet anaerobic digestion of food waste. *Bioresource Technology*, *118*, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.045>
- Nielfa, A., Cano, R., & Polanco, M. (2015). Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge. *Biotechnology Reports*, *5*, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.10.005>
- Oliveira, R. (2009). *Geração de energia elétrica a partir do biogás produzido pela fermentação anaeróbia de dejetos em abatedouro e as possibilidades no mercado de carbono*. Universidade de São Paulo - Brasil.
- Pierucci, S., Klemeš, J. J., Piazza, L., Bakalis, S., Florio, C., Pirozzi, D., ... Dumontet, S. (2017). Effect of Inoculum/Substrate Ratio on Dark Fermentation for Biohydrogen Production from Organic Fraction of Municipal Solid Waste. *Chemical Engineering Transactions*, *57*, 175–180. <https://doi.org/10.3303/CET1757030>
- Procházka, J., Dolej, P., Máca, J., & Dohányos, M. (2012). Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen. *Microbiol Biotechnol*, *93*, 439–

447. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3625-4>
- Rajagopal, R., Massé, D. I., & Singh, G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, 143, 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.030>
- Roitsch, J., & Büscher, W. (2009). *Charakterisierung und Optimierung von NawaRo-Biogasanlagen in typischen Ackerbauregionen in NRW*. Landwirtschaftliche Fakultät.
- Salem, A. H., Mietzel, T., Brunstermann, R., & Widmann, R. (2018). Two-stage anaerobic fermentation process for bio-hydrogen and bio-methane production from pre-treated organic wastes. *Bioresource Technology*, 265, 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.017>
- Shi, X. S., Dong, J. J., Yu, J. H., Yin, H., Hu, S. M., Huang, S. X., & Yuan, X. Z. (2017). Effect of Hydraulic Retention Time on Anaerobic Digestion of Wheat Straw in the Semicontinuous Continuous Stirred-Tank Reactors. *BioMed Research International*, 2017, 6. <https://doi.org/10.1155/2017/2457805>
- Siddique, M. N. I., & Wahid, Z. A. (2018). Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. *Journal of Cleaner Production*, 194(1), 359–371. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.155>
- Silva, F. M. S., Mahler, C. F., Oliveira, L. B., & Bassin, J. P. (2018). Hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion system by co-digestion of food waste, sewage sludge and glycerol. *Waste Management*, 76, 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.039>
- Singh, A., & Basak, P. (2018). Economic and environmental evaluation of municipal solid waste management system using industrial ecology approach: Evidence from India. *Journal of Cleaner Production*, 195, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.097>
- Soares, C. M. T., Feiden, A., & Tavares, S. G. (2017). Fatores que influenciam o processo de digestão anaeróbia na produção de biogás. *Revista Nativa*, 5, 522–528.
- Sung, S., & Liu, T. (2003). Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. *Chemosphere*, 53, 43–52. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00434-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00434-X)
- Theuerl, S., Klang, J., & Prochnow, A. (2019). Process Disturbances in Agricultural Biogas Production—Causes, Mechanisms and Effects on the Biogas Microbiome: A Review. *Energies*, 12, 365, 20. <https://doi.org/10.3390/en12030365>
- Tozlu, A., Özahi, E., & Abuşoğlu, A. (2016). Waste to energy technologies for municipal solid waste management in Gaziantep. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 54, 809–815. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.097>
- União Europeia. (2018). Política Energética: Princípios Gerais, 1–6. Retrieved from [http://www.europarl.europa.eu/ftu/pdf/pt/FTU\\_2.4.7.pdf](http://www.europarl.europa.eu/ftu/pdf/pt/FTU_2.4.7.pdf) [Acesso: 23-07-2019]
- Voelklein, M. A., Jacob, A., Shea, R. O., & Murphy, J. D. (2016). Assessment of increasing loading rate on two-stage digestion of food waste. *Bioresource Technology*, 202, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.001>
- Waldron, K. (2014). *Advances in Biorefineries*. Cambridge.
- Wang, X., & Zhao, Y. (2009). A bench scale study of fermentative hydrogen and methane production from food waste in integrated two-stage process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.09.100>
- Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Microbiol Biotechnol*, 85, 849–860. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>
- Wu, C., Huang, Q., Yu, M., & Ren, Y. (2018). Effects of digestate recirculation on a two-stage anaerobic digestion system, particularly focusing on metabolite correlation analysis. *Bioresource Technology*, 251, 40–48.
- Xiao, B., Qin, Y., Wu, J., Chen, H., Yu, P., Liu, J., & Li, Y. Y. (2018). Comparison of single-stage and two-stage thermophilic anaerobic digestion of food waste: Performance, energy balance and

- reaction process. *Energy Conversion and Management*, 156, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.10.092>
- Xu, F., Li, Y., Ge, X., Yang, L., & Li, Y. (2017). Anaerobic digestion of food waste – challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 247(September 2017), 1047–1058. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.020>
- Yang, L., Huang, Y., Zhao, M., Huang, Z., & Miao, H. (2015). Enhancing biogas generation performance from food wastes by high- solids thermophilic anaerobic digestion: Effect of pH adjustment. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 105, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.09.005>
- Yap, H. Y., & Nixon, J. D. (2015). A multi-criteria analysis of options for energy recovery from municipal solid waste in India and the UK. *Waste Management*, 46, 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.08.002>
- Zentner, A. (2019). From Mechanical Biological Treatment to Anaerobic Digestion - Challenges in Changing Plant Operations. *Journal for Wastes Resources & Residues*, 05, 46–56. Retrieved from DOI 10.31025/2611-4135/2019.13783%0A%0A
- Zhang, C., Su, H., & Tan, T. (2013). Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food waste in a dual solid – liquid system. *Bioresource Technology*, 145, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.030>
- Zhu, H., Parker, W., Basnar, R., Proracki, A., Falletta, P., & Seto, P. (2008). Biohydrogen production by anaerobic co-digestion of municipal food waste and sewage sludges. *International Association for Hydrogen Energy*, 33, 3651–3659. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.04.040>