

## GERAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E ÁLCOOIS POR BACTÉRIAS FERMENTATIVAS GERADORAS DE H<sub>2</sub> A PARTIR DE SACAROSE

Danilo Souza, José Eduardo de Oliveira, Rodrigo Sequinel, Sandra I. Maintinguer

*<sup>1</sup>Instituto de Química, UNESP – CEMPEQC (CENTRO DE MONITORAMENTO E PESQUISA DE QUALIDADE DE COMBUSTÍVEIS, BIOCUMBUSTÍVEIS, PETRÓLEO E DERIVADOS), Rua prof. Francisco Degni 55, Quitandinha – Araraquara – SP – Brasil*

**RESUMO:** O gás hidrogênio produzido no tratamento de águas residuárias, por meio de processos biológicos, pode ser utilizado como fonte de energia alternativa, aliando não somente tratamento biológico do efluente, mas também a obtenção de energia sustentável. Método de determinação dos produtos intermediários gerados na produção biológica de hidrogênio em reatores anaeróbios em batelada, através de cromatografia gasosa via *headspace* possibilita monitorar as rotas metabólicas que podem ocorrer durante a operação de reatores anaeróbios principalmente os ácidos orgânicos voláteis e álcoois. Nesse sentido o objetivo desse estudo foi implementar método cromatográfico para quantificação dos principais metabolitos gerados durante os processos biológicos de geração de gás hidrogênio.

**Palavras-chave:** Hidrogênio, produtos intermediários, cromatografia gasosa via *headspace*.

**ABSTRACT:** The hydrogen gas produced in the treatment of wastewater by biological processes, can be used as an alternative energy source, combining not only the biological effluent treatment, but also to achieve sustainable energy. With the implementation of the method of determination of the intermediate products generated in biological hydrogen production in anaerobic batch reactors, using gas chromatography via *headspace*. Enables to monitor the metabolic pathways of food biological process with reduced concentration of sucrose.

**Key words:** Hydrogen, Intermediate Products , gas chromatography via *headspace*.

### INTRODUÇÃO

Na operação de reatores anaeróbios aplicados à produção de H<sub>2</sub>, alguns parâmetros são analisados como pH, crescimento bacteriano, consumo da fonte de carbono e gerações dos produtos intermediários da digestão anaeróbia (álcoois e ácidos orgânicos voláteis), de acordo com as aplicações citadas anteriormente. Métodos de análise de substâncias voláteis por cromatografia gasosa são amplamente utilizadas em pesquisas de tratamento de efluentes de águas residuárias. Tais monitoramentos são de primordial importância para se avaliar as rotas metabólicas de produção ou consumo de H<sub>2</sub>, principalmente as análises das gerações de ácidos orgânicos e álcoois que ocorrem durante a digestão anaeróbia.

Adorno *et al.* (2014) validaram método de quantificação dos principais ácidos graxos voláteis, além de álcoois e acetona que são normalmente gerados durante os processos fermentativos de geração de H<sub>2</sub> em reatores anaeróbios. Nos testes realizados foram validados os parâmetros de precisão, linearidade, limite de detecção e precisão instrumental. Os autores (op. cit.) concluíram que a utilização de cromatografia gasosa por *headspace* foi um método rápido e eficaz para o monitoramento de substâncias voláteis provenientes de processos anaeróbios.

Nesse sentido, esse trabalho implantou o método de determinação e quantificação de acetona, metanol, etanol, n-butanol, ácidos graxos voláteis (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, capróico) por cromatografia gasosa e injeção automática via *headspace*. Foram realizadas curvas analíticas para a determinação e quantificação dos ácidos orgânicos voláteis e álcoois através do método de cromatografia gasosa e injeção automática via *headspace* e sua aplicação na determinação de amostras provenientes de reatores anaeróbios aplicados na geração de H<sub>2</sub>.

## MATERIAL E METODOS

Método de determinação e quantificação de acetona, metanol, etanol, n-butanol, ácidos graxos voláteis (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, capróico) por cromatografia e injeção automática via *headspace* na produção biológica de H<sub>2</sub> for realizado em . em cromatógrafo gasoso Thermo Scientific modelo Trace GC Ultra, equipado com injetor Split/splitless e detector de ionização de chama (DIC) de alta frequência, acoplado a um amostrador modelo Triplus, configurado para amostragem *headspace*. Isobutanol e ácido crotônico foram utilizados como padrões internos. Com a realização das curvas analíticas e respectivos coeficientes de determinação (0,9098 – 0,9903), foi possível detectar os principais metabolitos gerados durante a operação de reatores anaeróbios em batelada, alimentados com sacarose 5 (g/L) (Maintinguer *et al.*, 2008), durante 68,8 h, a 37 °C e pH 5,5.

Os dados experimentais obtidos durante o ensaio (1) foram ajustados para os valores médios obtidos das triplicatas dos reatores em batelada utilizando o software Statistica<sup>®</sup> (versão 8). A taxa máxima de produção de hidrogênio foi obtida por ajuste sigmoidal não linear da função Gompertz modificado (Lay *et al.*, 1998) indicada abaixo.

$$H = P \cdot \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{R_m \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

Em que P é o potencial de produção de hidrogênio (mmol/L cultura), R<sub>m</sub> é a taxa máxima de produção de hidrogênio (mmol/L cultura. h), λ é a fase lag (h) de geração de H<sub>2</sub> e e vale 2,718281828.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a realização das curvas analíticas e respectivos coeficientes de determinação (0,9098 – 0,9903), foi possível detectar os principais metabolitos gerados durante a operação de reatores anaeróbios.

Através do ajuste sigmoidal não linear da função Gompertz durante a operação dos reatores anaeróbios foram obtidos potenciais produção máxima de hidrogênio (P) de 13,49 mmol H<sub>2</sub>/L, taxas de produção (R<sub>m</sub>) de 0,4103 mmol H<sub>2</sub>/L e a duração da fase lag de 6,35 h (Figura 1). Tais ajustes estiveram próximos aos resultados obtidos de geração de H<sub>2</sub> com 46,8 h de operação e gerações máximas de 13,3 mmol H<sub>2</sub>/L. No final da operação foi verificado pH 4,3. As gerações máximas dos principais metabólitos foram (mmol/L): metanol (0,00179), ácido acético (0,001816) e ácido butírico (0,001758). As gerações máximas dos metabolitos ácido acético e butírico observadas foram diretamente associadas à produção máxima de hidrogênio, mostradas nas Figuras 2 e 3.

## CONCLUSÕES

O método cromatográfico para identificação dos produtos intermediários na produção biológica de H<sub>2</sub>, por cromatografia gasosa com injeção automática via headspace, possibilitou a quantificação dos principais metabólitos gerados durante os processos biológicos de geração de H<sub>2</sub>. A identificação dos tempos de retenção e a realização das curvas analíticas com coeficientes de determinação próximos a um ( $R^2 = 0,9098 - 0,9903$ ) permitiu correlacionar através de regressão linear as concentrações de acetona, álcoois e ácidos com as áreas dos cromatogramas.

Dessa forma, o método empregado avaliou as diferentes concentrações dos metabólitos (acetona, álcoois e ácidos orgânicos) gerados durante a operação dos reatores anaeróbios alimentados com concentrações reduzidas de sacarose 5 (g/L) aplicados na produção biológica de H<sub>2</sub>. Tais monitoramentos são de primordial importância para se avaliar as rotas metabólicas de produção ou consumo de H<sub>2</sub> que ocorrem durante a digestão anaeróbia.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e ao CEMPEQC pelo apoio técnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Adorno, M.A, et al. Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, 5: 406-414, 2014.
- 2 Lay JY; Li YY; Noike T. Developments of bacterial population and methanogenic activity in a laboratory-scale landfill bioreactor. **Water Research**, 32: 3673-3679, 1998.
- 3 MAINTINGUER, S.I. et al. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, 33: 4309-4317, 2008.

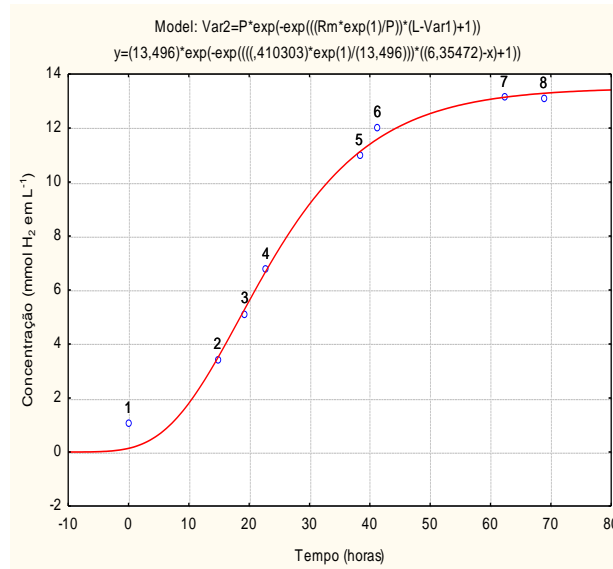


Figura 1: Produção biológica de H<sub>2</sub> em reatores anaeróbios em batelada

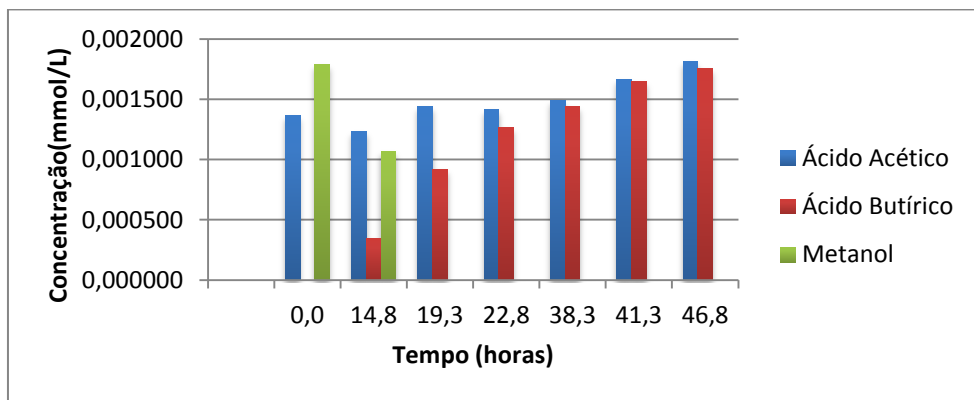


Figura 2: Metabólitos gerados durante operação dos reatores anaeróbios em batelada

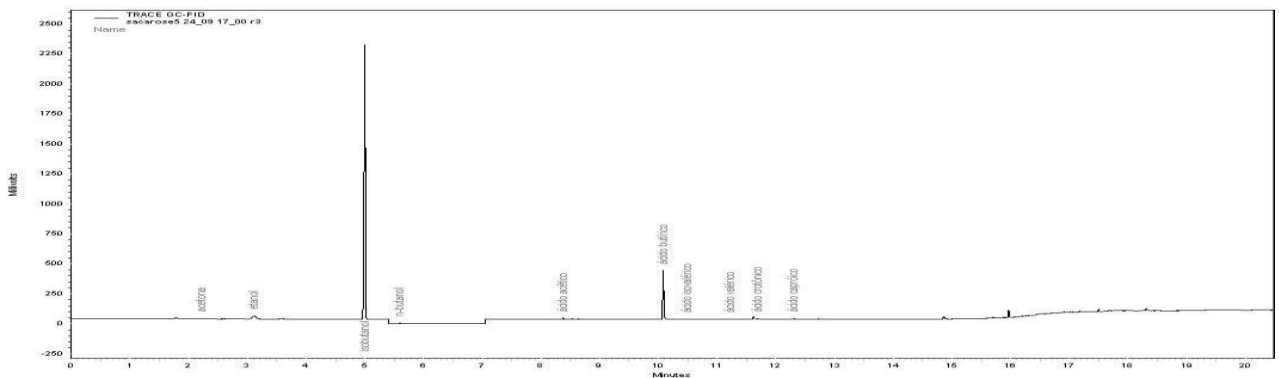


Figura 3: Cromatograma da geração máxima dos metabolitos