

186 - COMPARAÇÃO DOS SUBSTRATOS GLICEROL E SACAROSE NA PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO

Maria Cristina de Almeida Silva (1)

Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia (UERGS), Mestre e Doutora em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental (IPH-UFRGS). Professora Adjunta do IPH-UFRGS.

Luiz Olinto Monteggia

Engenheiro Mecânico e Civil (UFRGS). Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental (IPH-UFRGS). Doutor em Engenharia Sanitária pela University of Newcastle (UK). Pesquisador do PPG em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental (IPH-UFRGS).

Endereço (1): Av. Bento Gonçalves, 9500, Caixa Postal 15029 – Agronomia – Porto Alegre, RS. CEP: 91501-970 – Brasil - Tel: (51) 3308.6660 - e-mail: maria.almeida@ufrgs.br

RESUMO

A energia é essencial para o desenvolvimento econômico e social. Diversas fontes de geração de biocombustíveis têm sido amplamente pesquisadas, e entre as quais a tecnologia envolvendo a utilização de biohidrogênio parece vantajosa. Dentre os possíveis substratos utilizados para a produção de biohidrogênio, estão resíduos e efluentes, e o glicerol, subproduto da fabricação de biodiesel, merece destaque, devido o seu grande volume produzido. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi comparar a produção de biohidrogênio utilizando-se glicerol bruto e sacarose como substratos orgânicos. Este último foi empregado por ser considerado modelo de biodegradação, permitindo avaliar os resultados obtidos. Para os testes, foram utilizados reatores em batelada, com volume útil de 450 mL. Empregou-se as concentrações de 1,5; 3; 4,5 e 6 g/L de ambos os substratos, e fixou-se a concentração de inóculo em 2 g/L, permitindo-se obter quatro relações alimento/microrganismo (A/M) - 0,75; 1,25; 2,25; 3,0. Avaliou-se o volume e a porcentagem de hidrogênio produzido durante todo o experimento, bem como a demanda química de oxigênio (DQO) antes e após os testes. Como resultados, verificou-se que o glicerol utilizado possui potencial para ser utilizado como substrato orgânico, apresentando resultados semelhantes e até melhores do que os obtidos com sacarose.

PALAVRAS-CHAVE: Biohidrogênio, glicerol, sacarose.

INTRODUÇÃO

A energia é essencial para o desenvolvimento econômico e social. Entretanto, grande parte da energia é atualmente consumida e produzida sob formas que não poderiam ser sustentadas em longo prazo (MOHR et al, 2015; REN, 2016).

Diversas fontes de geração de biocombustíveis têm sido amplamente pesquisadas, e entre as quais a tecnologia envolvendo a utilização de biohidrogênio parece vantajosa (WANG & WAN, 2009; HALLENBECK, 2009; ROSSI et al, 2011; ARIMI et al, 2015, SARMA et al, 2015). O hidrogênio (H₂) gera somente água quando utilizado em uma célula a combustível. Isso ocorre porque a molécula de H₂ não é quimicamente ligada a átomos de carbono, e por isso, não contribui para as emissões de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera. Além disso, pode ser produzido biologicamente a partir de fontes renováveis, como biomassa e efluentes de águas residuárias industriais (DEMIREL et al, 2010; SARMA et al, 2015).

Os principais critérios para a seleção do substrato para produção de H₂ são disponibilidade, custo e biodegradabilidade (KAPDAN & KARGI, 2006). O efluente caracterizado como glicerol tem origem na produção de biodiesel, biocombustível que tem apresentado demandas de consumo crescente. Entretanto, sua produção industrial acarreta elevado acúmulo de rejeitos ricos em glicerol, estimado em 10% do volume total de biodiesel produzido.

Elevar as concentrações de substrato podem favorecer a eficiência de produção de hidrogênio. Entretanto, o próprio substrato ou os produtos formados podem ter efeito inibitório, quando ultrapassado o limite ideal de carga orgânica volumétrica (WANG & WAN, 2009; SIVAGURUNATHAN et al, 2016).

O glicerol puro pode ser utilizado em indústrias têxteis, químicas, farmacêutica e alimentícia (VASCONCELOS, 2012; ROSSI ET AL, 2012). Contudo, o uso comercial da glicerina está condicionado ao seu grau de pureza, igual ou maior do que 95%. Para alcançar estes valores, o glicerol bruto precisa ser submetido a processos de purificação, o que acarretaria custos demasiadamente elevados. Sendo assim, os grandes excedentes de glicerol que são gerados requerem novas utilizações a serem identificadas (MAINTINGUER, HATANAKA & OLIVEIRA, 2015). O emprego da fermentação anaeróbia, para a conversão desta substância em produtos de maior valor, pode representar uma rota promissora para alcançar a viabilidade econômica na indústria de biocombustíveis (VARRONE et al, 2013).

OBJETIVO

Sabe-se que o glicerol bruto pode conter impurezas que podem acarretar a inibição de processos biológicos. Sendo assim, no presente trabalho, o objetivo principal foi avaliar a produção de H_2 em testes em batelada, utilizando glicerol bruto como substrato orgânico e comparando os resultados obtidos com sacarose. Este último foi empregado pois é comumente utilizado como modelo de fácil biodegradação. Como objetivos específicos, foram (1) estudar o efeito de diferentes relações alimento e microrganismos (A/M) na produção de H_2 , (2) avaliar a produção de ácidos graxos voláteis; (3) verificar o rendimento, medido através da produtividade volumétrica de H_2 por massa de DQO removida ($mL H_2/gDQO_{removida}$) dos experimentos realizados.

METODOLOGIA

Para a realização dos testes em batelada foram utilizados frascos de reação, com agitação constante e temperatura controlada. O sistema está mostrado na Figura 1.

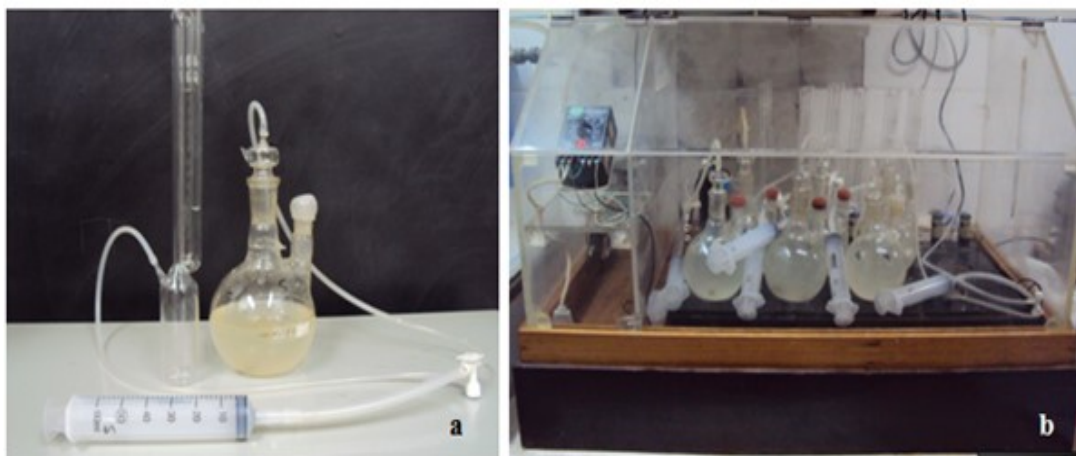


Figura 1: Sistema utilizado para a realização dos testes em batelada (a) Frasco de reação, manômetro e seringa para alívio de pressão e (b) caixa de acrílico para manutenção da temperatura e agitação constantes.

Conforme Figura 6a, cada reator consistiu de frasco de reação (volume total de 500 mL e volume útil de 450 mL), manômetro, para identificação da ocorrência da produção de gás pelo deslocamento da coluna d'água, e seringa graduada para a retirada diária do biogás produzido com consequente alívio da pressão no interior do manômetro. Portanto, a quantificação do volume de biogás gerado nos reatores foi realizada manualmente.

O equipamento utilizado, com capacidade para até 8 frascos de reação, consiste em uma caixa de acrílico, com termostato para manutenção de temperatura constante, e sistema de agitação, como mostrado na Figura 6b. Os reatores possuem um septo de silicone, o que permitiu a coleta de biogás gerado no decorrer do teste.

A temperatura de todos os testes foi mantida na faixa mesofílica, em $35\pm 2^\circ\text{C}$. O pH inicial foi mantido em torno de 5,5-6,0, de acordo com Mohan (2008), para evitar o crescimento de bactérias metanogênicas.

O glicerol empregado nos experimentos deste trabalho foi oriundo da indústria de biodiesel, localizada no estado do Rio Grande do Sul. A sacarose utilizada nos experimentos em batelada foi o açúcar cristal (comercial). Foram testadas as concentrações de 1,5; 3; 4,5 e 6 g/L, de ambos os substratos.

A inoculação baseou-se na utilização de biomassa proveniente de lodo granular de reator UASB de estação de tratamento de efluentes de empresa de processamento de soja, localizada no estado do Rio Grande do Sul. Antes de ser utilizado nos experimentos, os microrganismos foram submetidos à etapa de tratamento térmico, descrita por Rossi et al (2011). Fixou-se a concentração de biomassa em 2 g/L, permitindo-se trabalhar com as relações A/M de 0,75; 1,5; 2,25 e 3.

O tempo de detenção hidráulico (TDH) nos ensaios variou de 10 a 25 h, em função do tempo requerido para consumo do substrato pela biomassa empregada.

A qualidade do biogás gerado foi verificada utilizando-se cromatógrafo gasoso Dani GC 1000 com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna Molecular Sieve 80/100. As condições cromatográficas foram descritas por Morimoto et al (2004).

Já a análise das concentrações dos ácidos graxos voláteis foi realizada por cromatografia gasosa, utilizando cromatógrafo gasoso Dani GC 1000, com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar Nukol™ Supelco® (30m \times 0,25mm \times 0,25 μm). O método empregado foi descrito por Cuetos et al (2010).

A fim de caracterizar o afluente e efluente dos fermentadores, foram realizadas as seguintes análises físicas e químicas, tanto do afluente como do efluente dos reatores: demanda química de oxigênio (DQO), pH e sólidos voláteis totais (SVT). As análises descritas foram realizadas de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Wastewater* (APHA, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de H_2 foi avaliada utilizando-se o parâmetro rendimento, que avaliou a produtividade volumétrica de H_2 por massa de DQO removida ($\text{mL H}_2/\text{gDQO}_{\text{removida}}$). O Gráfico 1 mostra os valores obtidos de produtividade volumétrica de H_2 por massa de matéria orgânica removida nos testes. Verifica-se que os maiores rendimentos podem ser observados nas relações A/M de 1,125 para glicerol e 2,25 para sacarose e, com valores de 75 e 68 $\text{mL H}_2/\text{g DQO}_{\text{removida}}$, respectivamente.

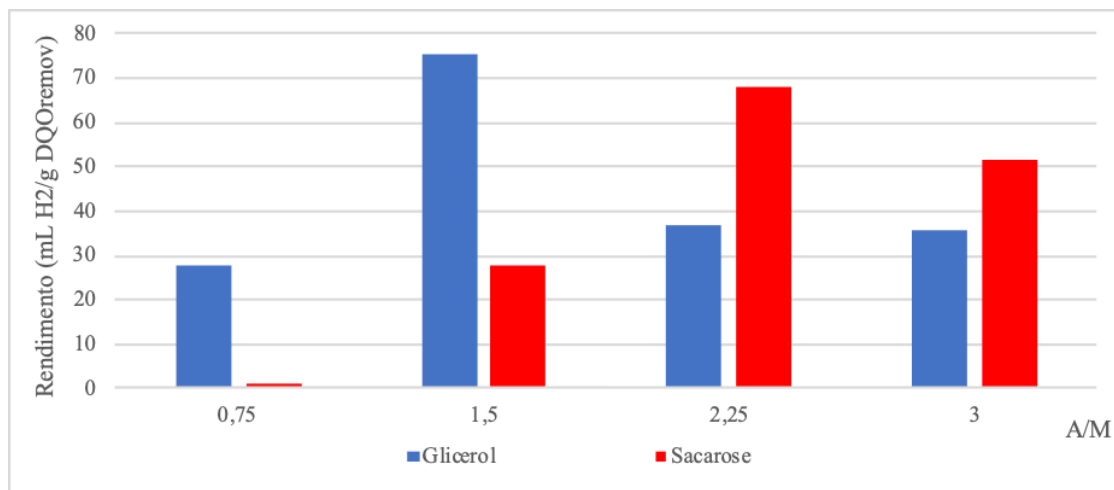


Gráfico 1: Produtividade volumétrica de H_2 por massa de matéria orgânica removida obtida utilizando glicerol e sacarose como substrato orgânico, com inoculação direta e natural, nas relações A/M propostas.

Para comparação dos valores obtidos, verificou-se na literatura trabalhos que realizaram testes em batelada. Trevisan (2010) testou a atividade hidrogênica específica de lodo anaeróbio pré-tratado. Para otimização do teste, foram utilizadas diferentes relações A/M, entre 16 e 0,13, de glicose como substrato. A autora encontrou a maior produtividade de 38 mL H₂/g DQO, quando utilizada a relação A/M 3,2.

Já Selembo et al (2009) realizaram testes em batelada para avaliar a produção de H₂ utilizando glicose, glicerol puro e bruto como substratos orgânicos e inóculo misto, todos na relação A/M de 3. Como resultados, para glicerol puro e bruto foram encontrados 71 e 43 mL H₂/g DQO, respectivamente, e 160 mL H₂/g DQO para a glicose. Os autores justificaram a menor produtividade do glicerol bruto pela presença de impurezas, que podem inibir a atuação microbiana.

As produtividades encontradas são superiores aos encontrados nos autores supracitados, inclusive para glicerol bruto. Contudo, o mesmo não se verifica quando analisados os dados do trabalho realizado por Chen et al (2006). Nesta pesquisa, foi conduzida uma avaliação da cinética de crescimento de bactérias produtoras de H₂, empregando sacarose, leite desnatado e resíduo de alimentos. A fermentação ocorreu em batelada, com lodo anaeróbio como inóculo.

Conforme os autores supracitados, a produção máxima de H₂ ocorreu quando foram utilizadas as relações A/M de 3,0 de sacarose, 21,3 de leite desnatado e 10,8 de resíduo de alimentos. Os valores máximos de produtividade de H₂ por massa de DQO removida foram 234, 119 e 101 mL H₂/g DQO, respectivamente.

Acredita-se que as elevadas produtividades volumétricas por massa de DQO removida obtidas pelos últimos autores citados sejam devido à utilização de inóculo oriundo de reator empregado para produção de H₂. Sendo assim, a biomassa já estava estabelecida e aclimatada para esta finalidade.

Ressalta-se que a produtividade volumétrica por massa de DQO removida relaciona o volume de H₂ produzido por massa de DQO removida, ou seja, o quanto da matéria orgânica inserida foi efetivamente convertida e transformada em H₂. Mesmo não realizando etapa prévia de aclimação da biomassa com os substratos utilizados, considerou-se a produtividade satisfatória, principalmente do glicerol, quando comparado com os resultados da literatura.

Sendo assim, mesmo que haja a presença de impurezas no glicerol bruto, os resultados de produção de gás obtidos neste trabalho, avaliados principalmente sob a forma de produtividade volumétrica por massa de substrato removido, são satisfatórios, próximos ou até superiores do que os verificados com sacarose, nas mesmas condições empregadas.

A distribuição percentual mássica obtida nos experimentos está mostrada no Gráfico 2. Foram avaliados os principais ácidos (acético, propiônico, butírico e isovalérico), produzidos durante a fermentação de glicerol (gráfico 2A) e sacarose (gráfico 2B).

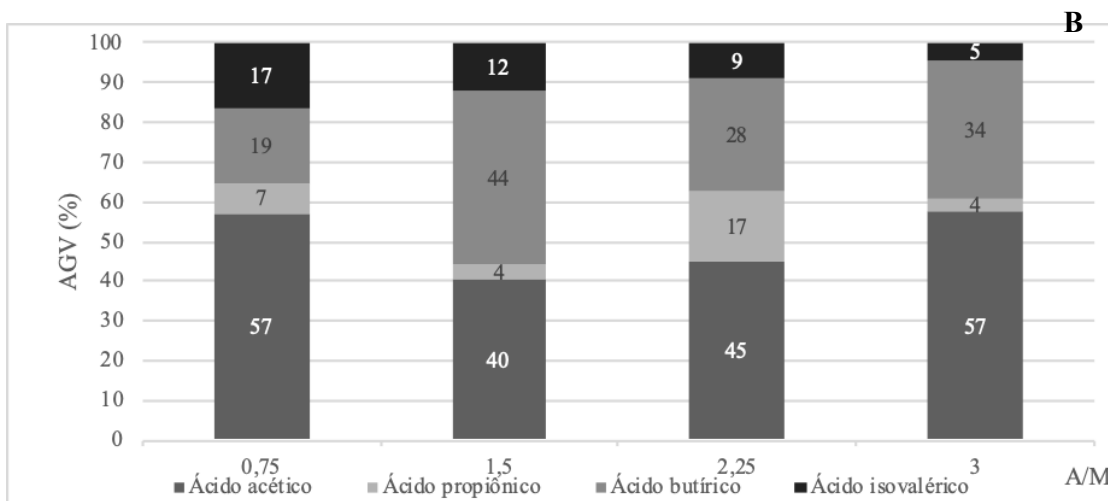
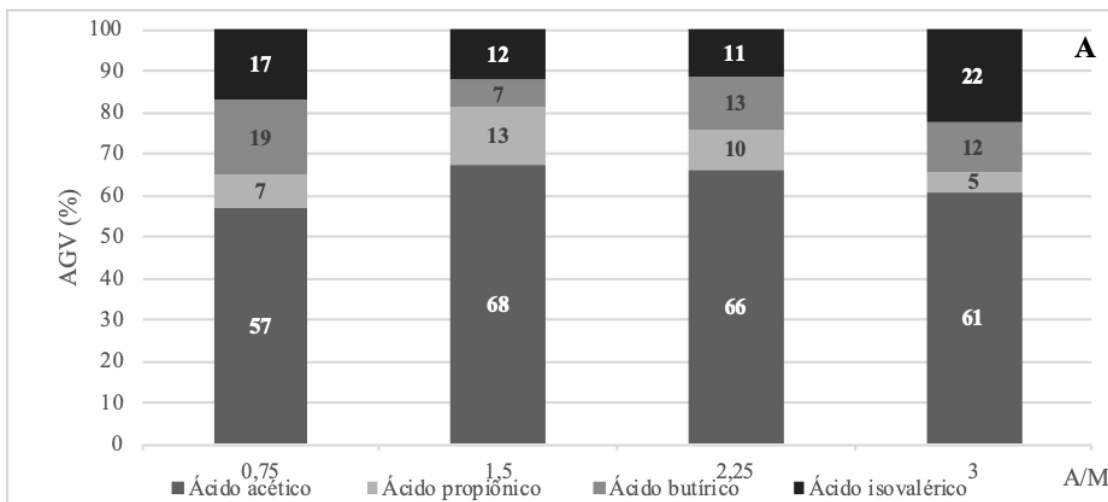


Gráfico 2: Distribuição percentual mássica dos AGV produzidos, conforme cada relação A/M proposta, com glicerol (A) e sacarose (B).

Como pode ser visualizado no Gráfico 2, dentre os AGV avaliados, o ácido acético foi o predominante na fermentação de glicerol e sacarose, salvo algumas exceções. Utilizando glicerol como substrato, este ácido esteve presente em no mínimo de 57% do total de AGV gerados. Já quando a sacarose foi empregada, em A/M de 1,5 e 2,25; o percentual deste ácido foi de 40 e 45%, respectivamente. Nas demais relações, esta proporção foi acima de 50%.

Os maiores produtos da produção de hidrogênio via fermentação de carboidratos são os ácidos acético, butírico e propiônico (KAPDAN & KARGI, 2006). A rota metabólica de produção de ácido acético e butírico, utilizando sacarose como substrato, está associada a elevadas produções de H₂, ou seja, o rendimento teórico é de 8 e 4 mols de H₂ para cada mol de sacarose empregado, respectivamente. Já a conversão à ácido propiônico não libera H₂.

Já em relação ao glicerol, a produção dos ácidos acético e butírico são relacionadas com o maior rendimento de H₂. Para cada mol de glicerol, 3 mols de H₂ são formados, concomitante à produção de acetato, e 2 mols de H₂, para butirato.

Nos resultados mostrados, mesmo nas situações em que o ácido acético não foi predominante, a mistura de acetato e butirato no meio líquido sempre foi prevalente. Sendo assim, quando analisada a proporção dos AGV formados, esta pode ser associada à produção de H₂.

De uma forma geral, os resultados obtidos mostraram que o glicerol bruto disponível para a realização dos testes possui potencial para a produção de H₂ e ácidos graxos voláteis, apresentando desempenho semelhante e até superior ao obtido com a sacarose. Destaca-se a relação A/M 1,5 para glicerol, que obteve o maior rendimento de produção de H₂, aliado a maior produção de ácido acético, subproduto relacionado a produção do gás de interesse. Já para sacarose, o maior rendimento de produção de H₂ foi obtido na relação 2,25. Entretanto, esta relação foi a que obteve a menor proporção de ácido acético e butírico.

CONCLUSÕES

O glicerol apresentou resultados satisfatórios nos testes em batelada realizados neste trabalho. Os AGV predominantes foram os ácidos acético e butírico, e o rendimento obtido foi próximo e até superior ao obtido com sacarose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th Ed., APHA/AWWA/WEF, 2012.
- 2- ARIMI, M. M.; KNODEL, J.; KIPROP, A.; NAMANGO, S. S.; ZHANG, Y.; GEIBEN, S. U. Strategies for improvement of biohydrogen production from organic-rich wastewater: a review. **Biomass and Bioenergy**, v. 75, p. 101-118, 2015.
- 3- CHEN, W. H.; CHEN, S. Y.; KHANAL, S. K.; SUNG, S. Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, n. 15, p. 2170-2178, 2006.
- 4- CUETOS, M.; GÓMEZ, X.; OTERO, M.; MORÁN, A. Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste: study of biological stabilization by Fourier Transform infrared spectroscopy and thermogravimetry combined with mass spectrometry. **Biodegradation**, v. 21, n. 4, p. 543–56, 2010.
- 5- DEMIREL, B.; SCHERER, P.; YENIGUN, O.; ONAY, T. T. Production of methane and hydrogen from biomass through conventional and high-rate anaerobic digestion processes. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, n. 40, p. 116 – 146, 2010.
- 6- HALLENBECK, P. C. Fermentative hydrogen production: principles, progress, and prognosis. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7379-7389, 2009.
- 7- KAPDAN, I. K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, n. 5, p. 569-582, 2006.
- 8- MAINTINGUER, S. I.; HATANAKA, R. R.; OLIVEIRA, J. E. **Glycerol as a Raw Material for Hydrogen Production**. In: BIERNAT, K. (Org.). *Biofuels - Status and perspective*. 1st Ed.: InTech, 2015, p. 477-497.
- 9- MOHAN, S. V. Fermentative hydrogen production with simultaneous wastewater treatment: influence of pretreatment and system operating conditions. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 67, p. 950 – 961, 2008.
- 10- MOHR, S. H.; WANG, J.; ELLEM, G.; WARD, J.; GIURCO, D. Projection of world fossil fuels by country. **Fuel**, v. 141. p. 120-135. 2015.
- 11- MORIMOTO, M.; ATSUKO, M.; ATIF, A. A. Y.; NGAN, M. A.; FAKHRU’L-RAZI, A.; IYUKE, S. E.; BAKIR, A. M. (2004) Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, n. 29, p. 709 – 713.
- 12- REN – RENEWABLE ENERGY POLICY NETWORK FOR THE 21st CENTURY. *Energias Renováveis 2016 – Relatório da Situação Mundial*. Disponível em <http://www.ren21.net/wp-content/uploads/2016/11/REN21_GSR2016_KeyFindings_port_02.pdf> Acesso em 27/12/2016.
- 13- ROSSI, D. M.; COSTA, J. B.; SOUZA, E. A.; PERALBA, M. C. R.; SAMIOS, D.; AYUB, M. A. Z. Comparison of different pretreatment methods for hydrogen production using environmental microbial consortia on residual glycerol from biodiesel. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 8, p. 4814-4819, 2011.

- 14- ROSSI, D. M.; COSTA, J. B.; SOUZA, E. A.; PERALBA, M. C. R.; AYUB, M. A. Z. Bioconversion of residual glycerol from biodiesel synthesis into 1, 3-propanediol and ethanol by isolated bacteria from environmental consortia. **Renewable Energy**, v. 39, n. 1, p. 223-227, 2012.
- 15- SARMA, S. J.; MAITI, S.; BRAR, S. K.; BIHAN, Y. L.; BUELNA, G.; VERMA, M. Low cost semi-continuous bioprocess and online monitoring of hydrogen production from crude glycerol. **RSC Advances**, v. 5, n. 109, p. 89809-89816, 2015.
- 16- SELEMO, P. A.; PEREZ, J. M.; LLOYD, W. A.; LOGAN, B. E. Enhanced hydrogen and 1,3-propanediol production from glycerol by fermentation using mixed cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 104, n. 6, p. 1098-1106, 2009.
- 17- SIVAGURUNATHAN, P.; KUMAR, G.; BAKONYI, P.; KIM, S. H.; KOBAYASHI, T.; XU, K. Q.; LAKNER, G.; TÓTH, G.; NEMESTÓTHY, N.; BÉLAFI-BAKÓ, K. A critical review on issues and overcoming strategies for the enhancement of dark fermentative hydrogen production in continuous systems. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 6, p. 3820-3836, 2016.
- 18- TREVISAN, V. Proposta de metodologia para determinação da atividade hidrogênica específica. **Tese (doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental)**. Instituto de Pesquisas Hidráulicas – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- 19- VARRONE, C.; ROSA, S.; FIOCCHETTI, F.; GIUSSANI, B.; IZZO, G.; MASSINI, G.; MARONE, A.; SIGNORINI, A.; WANG, A. Enrichment of activated sludge for enhanced hydrogen production from crude glycerol. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 3, p. 1319-1331, 2013.
- 20- VASCONCELOS, Y. **Resíduos bem-vindos**. Revista Pesquisa FAPESP, ed. 196, 2012. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2012/06/14/residuos-bem-vindos/>>. Acesso em: junho 2016.
- 21- WANG, J.; WAN, W. Factors influencing fermentative hydrogen production: a review. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 2, p. 799-811, 2009.