

## Isolamento de microrganismos anaeróbios estritos de consórcios microbianos produtores de hidrogênio e ácidos graxos voláteis utilizando glicerol residual

Darliane Andreis<sup>1</sup>, Ariela Schiavenin<sup>2</sup>, Leandro Góis de Almeida., Flaviane Eva Magrini, Adriana Giongo, Suelen Paesi<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Atividade voluntária em pesquisa, <sup>2</sup> Mestranda, <sup>3</sup> Orientadora

### INTRODUÇÃO

Os processos fermentativos de geração de hidrogênio podem ser uma alternativa promissora para o futuro, gerando energia através do reaproveitamento de resíduos agroindustriais. O glicerol é um subproduto da geração de biodiesel, sendo produzidas 100 toneladas de glicerol bruto para cada mil litros de biodiesel. Uma alternativa para a utilização deste resíduo é a produção de hidrogênio por processos fermentativos, utilizando culturas puras e consórcios microbianos para a produção de hidrogênio e ácidos de interesse econômico.

### OBJETIVO

Isolar microrganismos anaeróbios estritos de consórcios microbianos produtores de hidrogênio e ácidos graxos voláteis utilizando glicerol.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios de produção de hidrogênio e ácidos graxos voláteis foram conduzidos em meio de cultivo com glicerol residual e inóculo de consórcios obtidos de lodos da indústria vinícola (WI) e de óleos vegetais (VOI). Após tratamento térmico (90°C por 10 min) os cultivos foram mantidos sob agitação orbital em 140 rpm, a 37°C durante 72 horas. Após este período foram realizadas análises cromatográficas da produção de hidrogênio e de ácidos graxos voláteis. Para o isolamento dos microrganismos anaeróbios foi utilizada a técnica de *roll tube* em meio sólido de cultivo PYG. Para a caracterização molecular, o DNA foi extraído (Himedia HIPura TM) e amplificado com primers para domínio bactéria 16S rRNA e realizado o sequenciamento genético.

### RESULTADOS

A produção de hidrogênio dos bioensaios foi de 88.6 e 75.2 mmolH<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> para VOI e WI, respectivamente. Não houve diferença significativa entre os dois lodos ( $p=0.5275$ ) (Fig. 1).

Quanto a produção de ácidos graxos voláteis verificou-se a prevalência do ácido butírico em ambos inóculos (646 e 448 mg/L para WI e VOI, respectivamente) em T72 de fermentação (Fig. 2). O segundo ácido mais prevalente foi ácido acético (218 e 125 mg/L para WI e VOI, respectivamente).

As principais rotas metabólicas para a produção de hidrogênio são as rotas acéticas e butíricas. A razão é frequentemente usada como um bom indicador da produção de biohidrogênio.

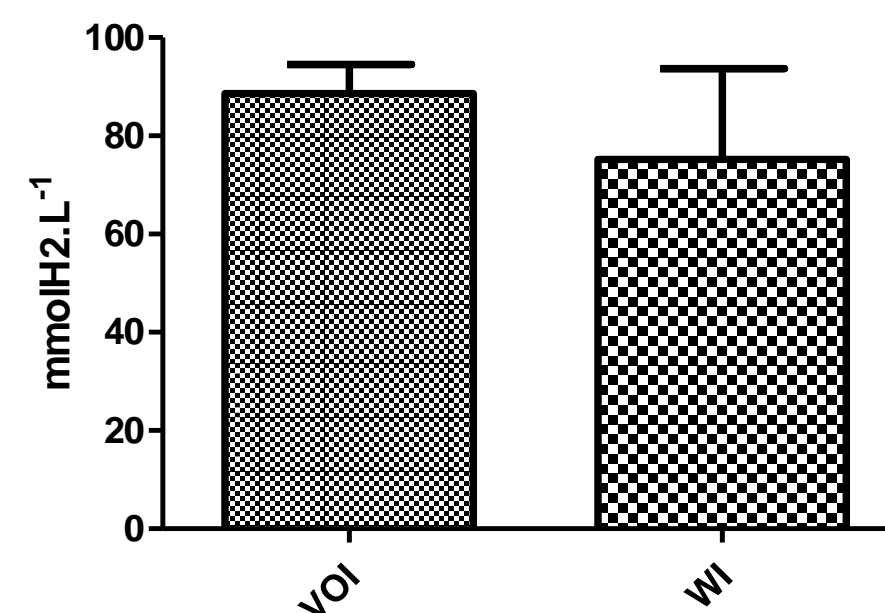


Fig. 1 Produção de hidrogênio com os inóculos VOI e WI.

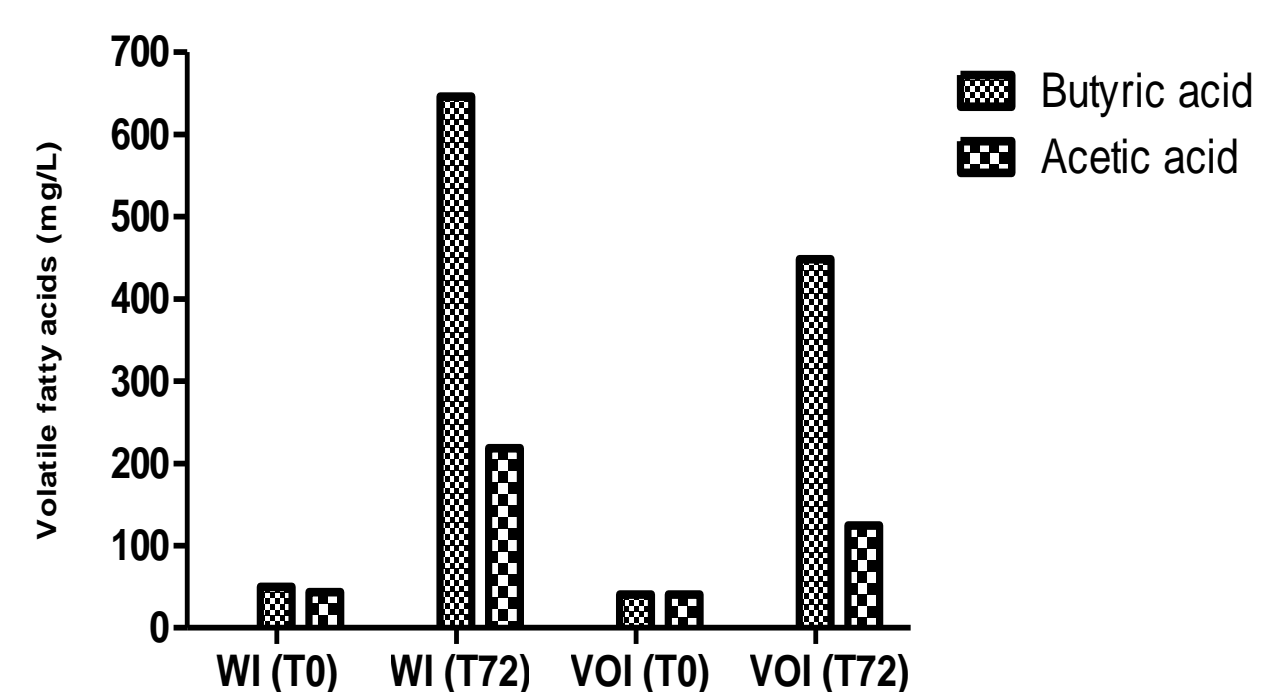


Fig. 2 Produção de ácidos butírico e acético pelos inóculos VOI e WI.

Três linhagens microbianas foram isoladas do bioensaio com o inóculo WI e quatro foram isoladas para VOI. Todas as cepas apresentaram similaridade genética de 100% com *Clostridium bifermentans* (GenBank, número de acesso NR\_113323.1). Diversos estudos mostram o gênero *Clostridium* amplamente associado na produção de hidrogênio devido a suas características metabólicas e morfológicas.

### DISCUSSÃO

É de fundamental importância conhecer os microrganismos envolvidos na produção de metabólitos como H<sub>2</sub> e ácidos voláteis, pois conhecendo a microbiota aumentam-se as possibilidades de manipulação para bioprospectar processos de interesse biotecnológico.

### REFERÊNCIAS

Amaral, P. F. F.; Ferreira, T. F. et al. Glycerol valorization: New biotechnological routes. Food and Bioproducts Processing 2009. Adhikari, S.; Fernando, S. D. et al. Hydrogen Production from Glycerol: An Update. Energy Convers. Manag (2009). Cai, G.; Jin, B. et al. Metabolic flux network and analysis of fermentative hydrogen production. Biotechnol Advances (2011).