



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
CURSO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS

PATRICIA BARROS VIANA

**PRODUÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS A PARTIR DE
GLICEROL RESIDUAL ORIUNDO DE BIODIESEL**

FORTALEZA

2017

PATRICIA BARROS VIANA

**PRODUÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS A PARTIR DE
GLICEROL RESIDUAL ORIUNDO DE BIODIESEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- V668p Viana, Patrícia Barros.
Produção anaeróbica de ácidos carboxílicos a partir de glicerol residual oriundo de biodiesel / Patrícia Barros Viana. – 2017.
47 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Ciências Ambientais, Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella
Coorientação: Prof. Dr. Renato Carrhá Leitão.
1. alongamento de cadeia carboxílica, glicerina.. I. Título.

CDD 333.7

PATRICIA BARROS VIANA

**PRODUÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS A PARTIR DE
GLICEROL RESIDUAL ORIUNDO DE BIODIESEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella.

Aprovada em:07/06 /2017.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. MSc. João Paulo Leite Félix

Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

MSc. Willame de Araújo Cavalcante

Programa de Pós Graduação do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da
Universidade Federal do Ceará (PPGDEHA - UFC)

À Deus.

Aos meus pais, Maria Irene e Francisco Edson, por serem a razão da minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por me segurar no colo nos momentos em que mais precisei.

Aos meus pais e irmãozinho, presentes de Deus, que fizeram mais do que o possível para que eu pudesse me dedicar aos estudos, de forma que eu só tenho a agradecer pelo apoio, conversas, conselhos e incentivos. Vocês são e sempre serão os principais motivos do meu sorriso ao acordar pela manhã, agradecendo ao pai do céu por ter vocês em minha vida.

À minha prima-irmã Valéria, que desde de quando eu era pequenininha se fez presente. Você sempre foi um exemplo e orgulho para mim. Se este trabalho está sendo concluído, um dos motivos foi os conselhos, livros e ensinamentos que você me dava, de alguma forma você contribuiu para que eu me apaixonasse pelo conhecimento.

Aos meus padrinhos, Flávio e Nilda, que são meus segundos pais. Só tenho a agradecer por tudo que fizeram por mim, espero algum dia retribuir à altura.

Ao meu namorado Paulo, por se fazer presente nos momentos mais importantes e simples do meu dia-a-dia. Você foi uma das surpresas mais lindas que já me aconteceu, espero construir muitas histórias e uma vida ao seu lado. Te amo.

À minha orientadora Profa. Dra. Sandra Tédde Santaella pelos ensinamentos, conselhos questionamentos e por ter aceitado me orientar. Um exemplo de professora, que fazia com que meus olhos brilhassem em cada aula e o sonho de ser uma cientista se tornasse maior, devo muito do que aprendi a ti.

Ao meu coorientador Renato Carrhá Leitão, pelo conhecimento compartilhado e por me conceder a oportunidade de trabalhar com sua equipe.

Ao Tito Gehring e Willame pela grande disponibilidade em tirar as dúvidas que sempre apareciam, vocês foram muito importantes na construção desse trabalho.

Ao meu parceiro de trabalho Aldo Colares, pelo companheirismo, conversas e ajuda em tantos momentos de laboratório.

À minha amiga e companheira de curso Elissandra Viana, você é uma pessoa muito especial, seu sorriso de manhã cedo fazia os dias mais fáceis.

Aos meus colegas de Equal, Tasso, Brenda, Juliana, Andressa, Alexandre e Dani, por cada momento compartilhado nesses anos de laboratório. Foram muitas histórias e apoio durante toda graduação, vocês significam uma segunda família para mim.

À turma de Ciências Ambientais 2014.1, que apesar de pequenininha, é muito especial.

À Eunice, por toda a disponibilidade.

Aos professores do curso de Ciências Ambientais, vocês são excelentes profissionais, um orgulho para mim.

À banca examinadora, pela disponibilidade e por aceitarem acrescentar mais à esse trabalho.

À todos os funcionários do Labomar.

Ao Laboratório de Tratamento de Efluentes e Qualidade de Água (Equal), por todo o aprendizado, acolhimento e principalmente por ter me dado de presente as pessoas que lá conheci.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo suporte necessário para realização da pesquisa.

Ao Laboratório de Tecnologia da Biomassa, por todo o acolhimento durante esse ano de pesquisa.

À Universidade Federal do Ceará, tenho orgulho de fazer parte dessa excelente universidade.

Ao CNPq pelo financiamento da pesquisa e da bolsa de Iniciação Científica.

E para as pessoas que de alguma forma me ajudaram a concluir este trabalho.

“Não há, ó gente, ó não, luar como
esse do sertão”. (Luiz Gonzaga)

RESUMO

Os ácidos carboxílicos, são ácidos produzidos por via anaeróbia durante a fermentação da matéria orgânica, sendo precursores da formação de metano. Entre os principais ácidos gerados, estão o ácido caproico, que possui várias aplicações na indústria química; o ácido valérico, matéria-prima para fabricação de biocombustíveis e o ácido heptanóico, utilizado na produção de biodiesel, de antimicrobianos e bioplásticos. O glicerol, subproduto gerado em grande quantidade na produção do biodiesel também pode ser aproveitado para diversos fins, principalmente como matéria-prima na indústria química para geração de produtos biotecnológicos. Entretanto, com o aumento da demanda de biodiesel imposto pela legislação brasileira, futuramente poderá haver glicerol em excesso no meio ambiente. Então, neste trabalho, utilizou-se glicerol com adição de etanol após o 80º dia de operação, em um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), com o objetivo de gerar produtos com valor agregado a partir do processo de alongamento de cadeia carboxílica. O reator tinha volume útil de 13,8 L, foi operado com carga orgânica volumétrica (COV) de 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, pH 5,3 e inoculado com lodo de uma estação de tratamento de esgotos (ETE) da Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE). Por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) constatou-se que os principais produtos gerados foram 1,3 – PDO, ácido valérico e ácido propiônico, totalizando mais de 70% dos metabólitos produzidos, mesmo com pouca variação de concentração do etanol adicionado, o que pode significar na produção interna do propanol pelo sistema e sua atuação como doador de elétrons no processo de alongamento de cadeia carboxílica. Acredita-se assim, que o glicerol se adequa melhor ao alongamento de cadeia carboxílica ímpar.

Palavras-chave: alongamento de cadeia carboxílica, glicerina, reator UASB.

ABSTRACT

Carboxylic acids are acids produced anaerobically during fermentation of organic matter, precursors of methane formation. Among the main acids produced are caproic acid, which has several applications in the chemical industry; valeric acid, biofuel feedstock and heptanoic acid, used in the production of biodiesel, antimicrobials and bioplastics. Glycerol, a by-product produced in large quantities in the production of biodiesel can also be used for various purposes, mainly as raw material in the chemical industry for the generation of biotechnological products. However, with the increased demand for biodiesel imposed by Brazilian legislation, in the future there may be excess glycerol in the environment. Then, in this work, glycerol with ethanol addition was used after the 80th day of operation in an upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB), in order to generate value-added products from the carboxylic chain elongation process. The reactor had a useful volume of 13.8 L, was operated with organic volumetric load of 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, pH 5.3 and inoculated with sludge from a Sewage Treatment Plant (ETE) of the Company of Water and Sewerage of Ceará (CAGECE). By high performance liquid chromatography (HPLC) the main products generated were 1,3-PDO, valeric acid and propionic acid, totaling more than 70% of the metabolites produced, even with little variation of the concentration of ethanol added, which can mean in the internal production of propanol by the system and its performance as an electron donor in the process of carboxylic chain elongation. It is believed that glycerol is best suited for odd carboxylic chain elongation.

Keywords: carboxylic chain elongation, glycerin, UASB reactor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema simplificado das rotas metabólicas envolvidas na digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa.....	18
Figura 2 – Reação de Transesterificação.....	22
Figura 3 – Representação simplificada das rotas metabólicas envolvidas na fermentação do glicerol à formação dos ácidos orgânicos.....	24
Figura 4 – Fotografia e esquema do reator UASB destinado à produção de ácidos carboxílicos.....	26
Figura 5 – Fotografia do glicerol residual utilizado durante a pesquisa.....	27
Figura 6 – Parâmetros monitorados durante o período de operação do reator UASB: (a) COV; (b) manutenção do pH; (c) produção de biogás.....	32
Figura 7 – Porcentagem dos metabólitos gerados no reator UASB.....	33
Figura 8 – Principais metabólitos produzidos, (a) 1,3 – propanodiol, (b) ácidos carboxílicos de cadeia par, (c) ácidos carboxílicos de cadeia ímpar, durante o período de operação.....	37
Figura 9 – Porcentagem dos gases presentes no biogás do reator UASB.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais ácidos orgânicos produzidos a partir da fermentação anaeróbia de compostos orgânicos.....	19
Tabela 2 – Composição da solução estoque de macro e micronutrientes utilizados na alimentação do reator UASB.....	28
Tabela 3 – Principais parâmetros operacionais utilizados nos reatores durante a pesquisa.....	29
Tabela 4 – Monitoramento realizado no reator UASB.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos graxos voláteis de cadeia curta
AGCM	Ácidos graxos voláteis de cadeia média
AGV	Ácidos graxos voláteis
AMA	Arqueas metanogênicas acetoclásticas
AMH	Arqueas metanogênicas hidrogenotróficas
ATP	Adenosina trifosfato
CAGECE	Companhia de água e esgoto do Ceará
COV	Carga orgânica volumétrica
DQO	Demanda química de oxigênio
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
LTB	Laboratório de Tecnologia da Biomassa
NADH e NAD	Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídio
PACC	Processo de alongamento de cadeia carboxílica
UASB	Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TRC	Tempo de retenção celular
1,3 – PDO	1,3 - propanodiol
2 – BES	2 - bromoetanosulfônico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo geral.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3.1. Digestão anaeróbia.....	17
3.2.Principais ácidos orgânicos produzidos pela via anaeróbia.....	18
3.3.Alongamento de cadeia carboxílica.....	21
3.4. O Glicerol.....	21
3.5. Bioquímica da fermentação do glicerol.....	23
3.6. Fatores que afetam a digestão anaeróbia do glicerol.....	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1. Reator UASB em escala de laboratório.....	26
4.2. Substrato.....	27
4.3. Alimentação	28
4.4. Parâmetros operacionais.....	29
4.5. Monitoramento dos sistemas.....	29
4.6.Cálculos.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1. Principais parâmetros monitorados no reator UASB.....	32
5.2. Produção de ácidos carboxílicos de cadeia média e avaliação do processo de alongamento de cadeia carboxílica.....	33
5.3. Balanço de massa do sistema.....	37
5.4.Produção de biogás e inibição da atividade metanogênica	38
6. CONCLUSÕES.....	40
7. REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

Diante da crise energética mundial causada pela diminuição da oferta de combustíveis fósseis, aspectos relacionados à produção de combustíveis foram sendo repensados, como os seus custos, disponibilidade sustentada, impacto no aquecimento global, exigências das legislações ambientais, o que contribuiu para o surgimento de diversas alternativas para a falta de combustíveis. (OLIVEIRA *et al.*, 2007)

Fontes alternativas podem ser definidas como produtos possíveis de serem utilizados para a geração de energia, obtidos total ou parcialmente da biomassa (TOLMASQUIM, 2003). Durante a segunda guerra mundial, com o desabastecimento de petróleo no mundo, pesquisadores de vários países procuraram alternativas, surgindo na Bélgica, a ideia de transesterificar óleos vegetais com etanol, sendo obtido o biodiesel (SUAREZ *et al.*, 2007).

O biodiesel, é um combustível obtido pela mistura de ésteres de ácidos graxos com monoalcoóis de cadeia curta, como o metanol ou o etanol (SUAREZ *et al.*, 2007). Essa mistura é produzida pela reação de transesterificação de óleos ou gorduras, substâncias encontradas em tecidos animais e vegetais de matrizes consideradas sustentáveis. No Brasil, a demanda por esse óleo continua crescente, já que segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), em 2008 exigia-se uma porcentagem de adição mínima de biodiesel no diesel de 4%, essa fração aumentou para 5% em 2010 e com a Lei nº 13.263/2016 foi determinado um cronograma de aumento do teor de biodiesel, que chegará a 10% em 2019 (BRASIL, 2016).

No entanto, em cada quilograma de biodiesel produzido são obtidos como subproduto, cem gramas de glicerol (YAZDANI; GONZALEZ, 2007), um subproduto gerado em grande quantidade, que apesar do alto impacto ao meio ambiente se descartado incorretamente, pode ser aproveitado para diversos fins. As principais utilidades do glicerol são como matéria-prima na indústria química, para a geração de produtos biotecnológicos (TEMUDO *et al.*, 2008) e na produção de metano e hidrogênio, como forma de geração de energia (SILES LÓPES *et al.*, 2009; ITO *et al.*, 2005).

Entre uma das alternativas de utilização de glicerol, encontram-se os ácidos carboxílicos, produtos biotecnológicos que podem ser produzidos por microrganismos

pelo processo de alongamento de cadeia carboxílica (POPJAK *et al.*, 1951), na fermentação do glicerol residual em biorreatores anaeróbios. Esses ácidos possuem diversas aplicações na indústria, entre elas estão a produção de vernizes, tensoativos, desinfetantes, plastificantes, produtos farmacêuticos e alimentícios (LIU *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2014), além de surgirem como uma alternativa de aproveitamento da crescente quantidade de resíduo que está sendo ofertada, utilizando um processo de transformação menos agressivo ao meio ambiente e com menos custos comparado com a indústria química, que necessita utilizá-lo purificado (WANG *et al.*, 2001).

Neste trabalho propõe-se a utilização de um reator anaeróbio com cultura mista para a produção de ácidos carboxílicos, principalmente os ácidos valérico, caproico e heptanoico, utilizando como matéria-prima glicerol proveniente de uma indústria de biodiesel, substrato que ainda não havia sido testado para essa finalidade. Esta alternativa é pouco estudada na literatura e pode contribuir futuramente para a sustentabilidade das indústrias de combustíveis com o tratamento de resíduos, além da geração de produtos com alto valor agregado no mercado.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar a produção de ácidos carboxílicos a partir da fermentação anaeróbia de glicerol oriundo de biodiesel.

2.2. Objetivos específicos

- Investigar o processo de alongamento de cadeia carboxílica até ácido caproico ou heptanoico com e sem adição de etanol no afluente.
- Determinar a efetividade de inibição das bactérias metanogênicas durante o processo de produção de ácidos carboxílicos em pH ácido.
- Determinar as concentrações dos principais metabólitos obtidos nos biorreatores e respectivos valores de DQO relativas.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

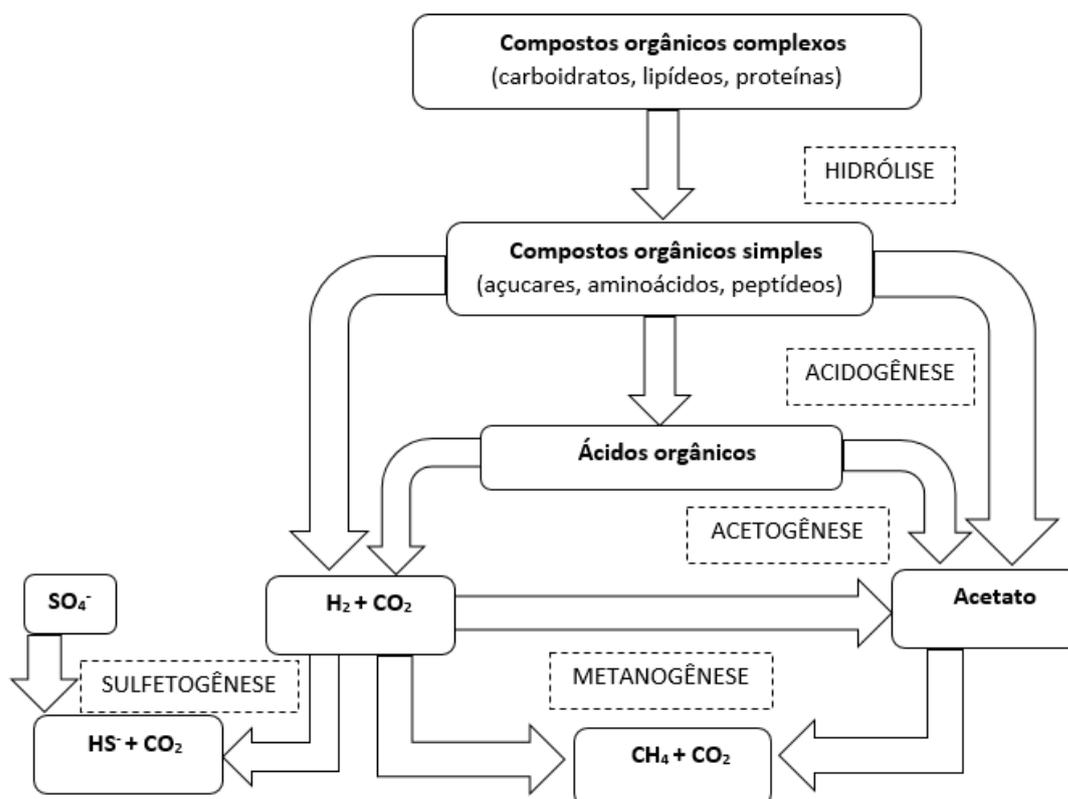
3.1. Digestão anaeróbia

O processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica surgiu como biotecnologia para tratamento de resíduos orgânicos e águas residuais (ANGELIDAKI *et al.*, 2007), juntamente como oportunidade de utilizar resíduos variados para produção de carboxilatos que serão convertidos em bioprodutos (AGLER *et al.*, 2011). Existe ainda a possibilidade de utilizar a digestão anaeróbia para geração de energia, produção de calor, além de produção de hidrogênio, metano, álcoois e ácidos carboxílicos a partir de produtos ricos em proteínas, lipídeos e carboidratos (AGLER *et al.*, 2012).

De acordo com Chernicharo (1997), a digestão anaeróbia envolve vários processos metabólicos complexos, como em um ecossistema em que há a interdependência de grupos de microrganismos específicos em estágios bioquímicos consecutivos, tornando a fermentação anaeróbia possível. O processo de decomposição dos compostos orgânicos geralmente é considerado como tendo dois estágios principais: a decomposição de compostos orgânicos em materiais orgânicos mais simples, principalmente ácidos graxos voláteis, bem como a geração de dióxido de carbono e metano (ANGELIDAKI *et al.*, 2006).

Para que a degradação ocorra, primeiramente bactérias fermentativas acidogênicas precisam converter compostos orgânicos complexos (substrato) em compostos mais simples, por hidrólise e fermentação; os microrganismos acetogênicos utilizam os compostos orgânicos intermediários formados, os ácidos graxos voláteis, para a produção de hidrogênio e dióxido de carbono e por fim, os produtos gerados anteriormente são convertidos em metano e dióxido de carbono pelas arqueas metanogênicas. Essas etapas são comumente classificadas em hidrólise, fermentação primária e secundária (CHERNICHARO, 2007) e estão representadas na figura 1.

Figura 1 – Esquema simplificado das rotas metabólicas envolvidas na digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa.



Fonte: Adaptado de Lettinga *et al.* (1999).

3.2. Principais ácidos orgânicos produzidos por via anaeróbia

Durante a fermentação da matéria orgânica ocorre a produção de ácidos orgânicos intermediários, precursores da formação do metano (CHERNICHARO 2007). Esses ácidos também conhecidos como ácidos graxos voláteis (AGV) podem ser produzidos a partir da fermentação de açúcares utilizando bactérias em vez de leveduras (AGLER *et al.*, 2011), podendo ser classificados em AGV de cadeia curta (AGCC), os ácidos monocarboxílicos saturados que possuem até cinco átomos de carbono (LIU *et al.*, 2014) e os AGV de cadeia média (AGCM), os que possuem de seis a nove átomos de carbono ligados à cadeia (GROOTSCHOLTEN *et al.*, 2014), como estão representados na tabela 1:

Tabela 1- Principais ácidos orgânicos produzidos a partir da fermentação anaeróbia de compostos orgânicos.

Grupo	Nome comum	Nome IUPAC	Fórmula Química	Estrutura Química
AGCC	Acético	Etanoico	C ₂ H ₄ O ₂	HCOOH
	Propiônico	Propanoico	C ₃ H ₆ O ₂	CH ₃ -COOH
	Lático	2-Hidroxi	C ₃ H ₆ O ₃	CH ₃ -CH ₂ -COOH
	n-Butírico	Butanoico	C ₄ H ₈ O ₂	CH ₃ -CH(CH ₃)-COOH
AGCM	n-Valérico	Pentanoico	C ₅ H ₁₀ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₂ -COOH
	n-Caproico	Hexanoico	C ₆ H ₁₂ O ₂	CH ₃ -CH(CH ₃)-CH ₂ -COOH
	n-Enântico	Heptanoico	C ₇ H ₁₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₃ -COOH
	n-Caprílico	Octanoico	C ₈ H ₁₆ O ₂	CH ₃ -CH(CH ₃)-(CH ₂) ₂ -COOH
	n-Pelargônico	Nonanoico	C ₉ H ₁₈ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -COOH

Fonte: Adaptado de Raposo *et al.* (2013).

O ácido caproico, é um ácido carboxílico de cadeia média que além de ser produzido na fermentação anaeróbia de compostos biodegradáveis, pode ser produzido também pela fonte petroquímica (WASEWAR; SHENDE, 2010). Este ácido pode ser usado como precursor de combustível renovável (hexanol) (DEKISHIMA *et al.*, 2011), como aditivo na indústria de alimentos e de ração para suínos e aves (ROSSI *et al.*, 2010) e matéria-prima na indústria química e farmacêutica (NAGAO; YANAGITA, 2010; LEE *et al.*, 2014).

Em sistemas anaeróbios, naturalmente, os microrganismos tendem à decomposição de compostos orgânico para compostos com menor teor de energia livre, como o metano (CHERNICHARO, 2007). Com a alteração das condições predominantes, a partir da adição de compostos redutores, como o etanol, e com a inibição de microrganismos metanogênicos pela redução de pH ou por adição de substâncias específicas, a produção do ácido caproico ou de ácido caprílico se torna, em sistemas

anaeróbios, a única alternativa de degradação a partir de acetato e butirato (ANGENENT *et al.*, 2016).

O ácido valérico, outro ácido gerado durante a digestão anaeróbia, é tradicionalmente obtido por hidrólise de materiais lignocelulósicos, para uso como matéria-prima na fabricação de biocombustíveis conhecidos como “*valeric biofuels*” (LANGE *et al.*, 2010). Os biocombustíveis são produzidos por um processo simples e de baixo custo, além de se misturarem tanto com gasolina como com diesel, melhorando a ignição da combustão (CONTINO *et al.*, 2013), (LANGE *et al.*, 2010). Essas vantagens, tornam o ácido valérico um produto promissor entre os produzidos por via anaeróbia.

O ácido heptanoico, derivado do alongamento de cadeia do ácido valérico, é um produto bioquímico produzido principalmente pela pirólise do óleo de mamona (DAS; TRIVEDI; VASISHTHA, 1989). O heptanoato é utilizado na produção do biodiesel (RENZ, 2005), de antimicrobianos, bioplásticos, (WOOLFORD, 1975; LIEBERGESELL *et al.*, 1991) além de estar sendo estudado como potencial agente inibitório da corrosão para utilização em tintas (AGHZZAF *et al.*, 2014).

Uma alternativa para produção de ácido heptanoico, é o processo de alongamento de cadeia em cultura mista, no qual se pode obter produção mais eficiente de heptanoato, e a seletividade dos ácidos carboxílicos de cadeia média por esse processo pode ser superior a 80% (AGLER *et al.*, 2012; GROOTSCHOLTEN *et al.*, 2013a). Grootscholten *et al.* 2013a utilizaram um filtro anaeróbio ascendente alimentado com propionato e etanol com TDH de 17 h, e obtiveram cerca de 3,2 g.L⁻¹ de ácido heptanoico.

3.3. Alongamento de cadeia carboxílica

Segundo Agler *et al.* (2011), o processo de alongamento de cadeia carboxílica para a formação de ácidos graxos de cadeias maiores, consiste em um processo de oxirredução, no qual o composto orgânico mais oxidado reage com o composto mais reduzido. De acordo com Steinbusch *et al.* (2011), Agler *et al.* (2012) e Angenent *et al.* (2016), o processo de alongamento de cadeia carboxílica (PACC) é um processo cíclico que adiciona uma molécula de acetil-CoA, derivada de etanol a um carboxilato, alongando seu comprimento de cadeia de carbono de acetato [C2] a n-butirato [C4], n-butirato [C4] a n-caproato [C6], n-caproato [C6] a n-caprilato [C8]. No entanto, se os níveis de propionil-CoA estiverem elevados, poderá haver sua incorporação no lugar do Acetil-CoA, ocorrendo o alongamento de propiônico [C3] a n-valerato [C5] e n-valerato [C5] a heptanoato [C7] (TORELLA *et al.*, 2013).

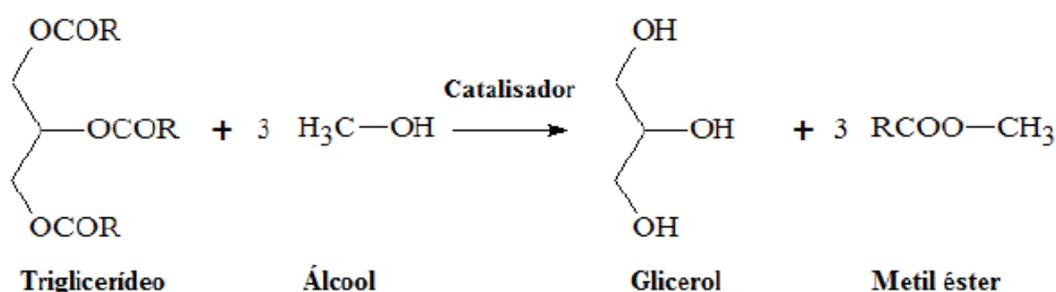
Para que o processo de alongamento de cadeia carboxílica (PACC) ocorra, necessita-se da existência de substratos simples, que geralmente são produzidos durante a fermentação primária (STADTMAN; BARKER, 1950; AGLER *et al.*, 2012). Essas substâncias são convertidas em acetil-CoA, um composto chave no metabolismo celular, que tem atuação essencial no processo de alongamento de cadeia, sendo considerada uma fonte de energia importante (AGLER *et al.*, 2012).

Por isso, para a formação de ácidos carboxílicos com cadeias mais longas, são utilizados substratos simples de origem externa ou interna a partir da digestão primária de compostos complexos (AGLER *et al.*, 2012), geralmente com etanol ou hidrogênio, que participam da formação de ácidos carboxílicos de cadeia média como doadores de elétrons no PACC (WANG *et al.*, 2001), além da possibilidade de utilizar também o propanol, outro composto considerado adequado para o alongamento de cadeia (COMA *et al.* 2016). Os doadores de elétrons ao serem oxidados fornecem energia metabólica (ATP) ao PACC, além de serem convertidos em equivalentes redutores (NADH) para o ciclo de β -oxidação reversa. (SPIRITO *et al.*, 2014).

3.4.O Glicerol

O glicerol, também chamado de glicerina, é um composto orgânico com fórmula química $C_3H_8O_3$. É um álcool inodoro, viscoso, higroscópico e um subproduto do biodiesel, obtido em maior quantidade pela reação de transesterificação (figura 1), que utiliza um éster e um álcool juntamente com um catalisador, para formar o biodiesel e outro álcool (glicerol) (SILVA *et al.*, 2009). Possui utilidade em diversas indústrias: como na farmacêutica, cosméticos, detergentes, tintas, automóveis, alimentos (TEMUDO *et al.*, 2008), papel, celulose, têxtil e de couro (WANG *et al.*, 2001).

Figura 2 - Reação de Transesterificação.



Fonte: Adaptado de Ricaczski et al. (2006)

No entanto, a reação de transesterificação gera um glicerol residual com diversas impurezas, o que o torna menos competitivo em relação aos que são gerados a partir de outros processos, como a fermentação biológica e a síntese química de produtos petroquímicos (VIANA *et al.*, 2012). As principais impurezas presentes nesse resíduo são: metanol, sais, metais pesados, ácidos orgânicos, cloretos e sulfatos (SILES LÓPES *et al.*, 2009; RYWÍNSKA *et al.*, 2009), afetando os custos operacionais nos processos industriais que necessitam de glicerol puro.

Uma alternativa para o uso de glicerol sem necessidade de purificação, é sua conversão biológica, em biorreatores, para produtos com maior valor de mercado (PACHAURI; HE, 2006). Segundo Yazdani e Gonzalez (2007), conversões químicas e biológicas podem ser usadas para transformar glicerol em produtos mais valiosos, com

destaque para os processos biológicos que o transformam mesmo com níveis elevados de contaminantes e como consequência acabam reduzindo os custos do processo.

3.5. Bioquímica da fermentação de glicerol

Segundo Yazdani e Gonzalez (2007), a utilização da fermentação anaeróbia para converter glicerol de baixo valor gerado na produção de biodiesel em novos produtos, aparece como um caminho promissor para alcançar a viabilidade econômica da indústria de biocombustíveis, devido à possibilidade de fermentação por vários organismos que sintetizam produtos com diversas funcionalidades.

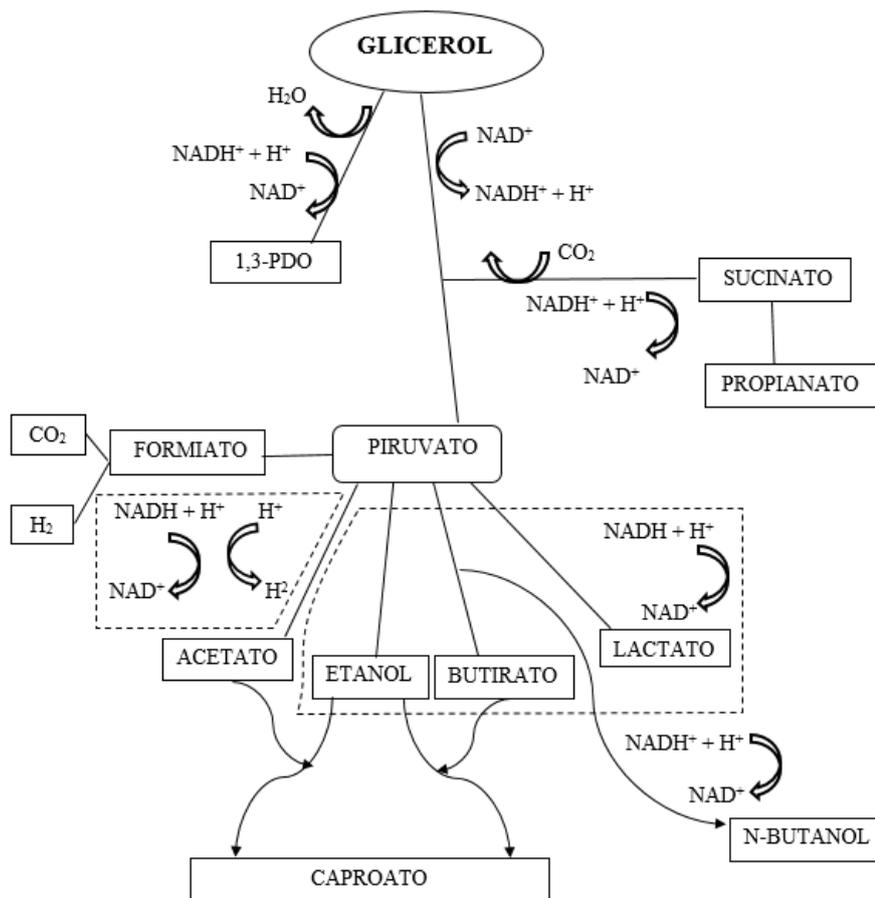
No processo de fermentação, diferentemente da respiração, a oxidação da matéria orgânica é feita na ausência de um acceptor final de elétrons. Para que a fermentação seja obtida, são necessários processos metabólicos complexos com consórcios de microrganismos em rotas metabólicas sequenciais (CHERNICHARO, 2007).

Com a fermentação do glicerol, há a possibilidade de produção de diversos compostos: solventes como etanol e butanol, ácidos orgânicos (acetato, propionato, butirato), 1,3-propanodiol e dihidroxiacetona (TEMUDO *et al.*, 2008). Esses produtos são obtidos durante o processo de degradação do substrato pelo consórcio de microrganismos, com destaque para os ácidos orgânicos que são os principais intermediários da digestão anaeróbia, sendo rapidamente consumidos se houver a presença de bactérias acetogênicas e metanogênicas em quantidade suficiente e condições ambientais favoráveis (CHERNICHARO, 2007).

De acordo com Biebl *et al.* (1999) as rotas metabólicas fermentativas do glicerol (Figura 3) podem ocorrer por via redutora ou via oxidativa. Pela via redutora, é produzido 1,3 propanediol (1,3-PDO), em um processo de desidratação em que 3-hidroxi-propionato sofre redução. Na via oxidativa, o glicerol é desidrogenado, formando dihidroxiacetona que, após sofrer fosforilação, pode ser convertido a succinato, e depois a propionato ou a piruvato e seus respectivos produtos, além da produção do ácido

caproico a partir do alongamento de cadeia do ácido butírico ou acetato com etanol, em proporções molares diferentes.

Figura 3 - Representação simplificada das rotas metabólicas envolvidas na fermentação do glicerol à formação dos ácidos orgânicos.



Fonte: Adaptado de Agler *et al.* (2011) e Silva *et al.* (2009).

Segundo Temudo *et al.* (2008), o uso de culturas mistas, pode-se tornar uma alternativa viável para a produção de ácidos orgânicos a partir de glicerol residual. Esse tipo de processamento diminui os custos, não sendo necessárias condições estéreis, além da contribuição dos inóculos com alta diversidade de microrganismos que são menos sensíveis às condições impostas ao sistema, adaptando-se às modificações ocorridas de forma melhor.

No entanto, parâmetros do sistema como o pH, temperatura e carga orgânica necessitam ser controlados com o intuito de que não haja consumo de ácidos orgânicos interessantes formados na fermentação de glicerol e para influir nos produtos da acidogênese (HORIUCHI *et al.*, 2002). Com o pH do meio controlado, ou através da adição de substâncias inibidoras de bactérias metanogênicas, há limitação da presença desses microrganismos, com isso os ácidos intermediários não são utilizados na mesma proporção que são produzidos, resultando em acúmulo de ácidos orgânicos e seleção dos produtos fermentativos formados a partir de glicerol (TEMUDO *et al.*, 2008; DIETZ e ZENG, 2014).

3.6.Fatores que afetam a digestão anaeróbia de glicerol

Diferentemente do glicerol puro (95% de pureza), o glicerol oriundo do biodiesel tem várias impurezas, que podem afetar as atividades do consórcio de microrganismos e, como consequência, prejudicar a digestão anaeróbia e a formação dos ácidos carboxílicos. Entre as principais impurezas estão: metanol, metais pesados, sabão, compostos orgânicos (SILES LÓPES *et al.*, 2009; RYWÍNSKA *et al.*, 2009), ácidos de cadeia longa, cloretos e sulfatos que são considerados tóxicos e recalcitrantes, causando danos significativos na microbiota (HANAKI *et al.*, 1981).

Além da presença de substâncias prejudiciais, a escassez de nutrientes também influencia a digestão anaeróbia. Os microrganismos necessitam de fontes nutricionais juntamente com fontes de carbono e energia para a realização de atividades metabólicas e crescimento, como ocorre em outros processos biológicos (SINGH *et al.*, 1999).

De acordo com Chernicharo (1997), os benefícios de qualquer tratamento de efluentes são alcançados de forma otimizada se houver uma sequência lógica de ações, através de controle operacional. Na digestão de glicerol residual, os principais parâmetros operacionais e de dimensionamento são: carga orgânica volumétrica (COV), devido ao fato de a taxa de conversão do substrato ser o fator limitante do processo quando se usa efluentes concentrados, o tempo de detenção hidráulica (TDH), pela necessidade de contato entre o substrato e os microrganismos por um tempo mínimo, e o tempo de

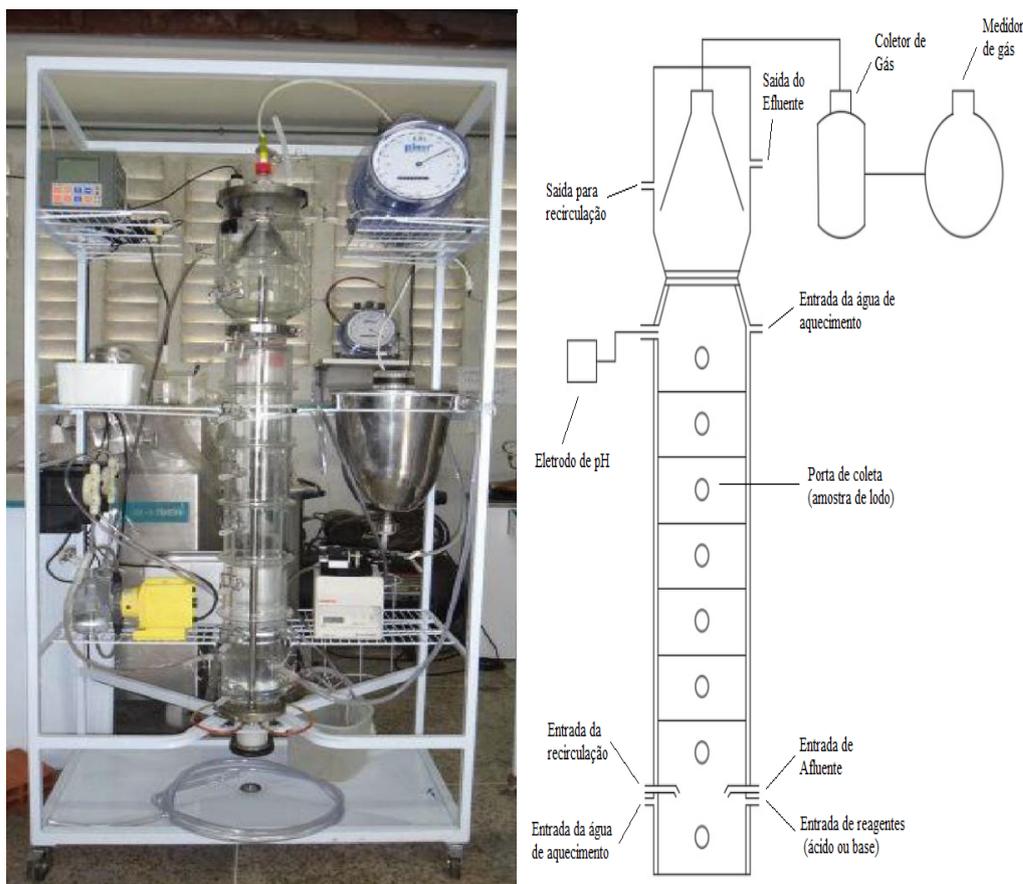
retenção celular (TRC), de forma que não haja perda excessiva da biomassa (CHERNICHARO, 1997).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reator UASB (Reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo)

O reator UASB utilizado durante a pesquisa (Figura 4) foi operado e monitorado no Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB), da Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa) em Fortaleza- CE. O reator de vidro borossilicato possui 0,10 m de diâmetro, 1,35 m de altura, volume útil de 13,8 L. Oito torneiras na extensão do reator permitiram a retirada de amostras utilizadas na análise do perfil do lodo anaeróbico do reator.

Figura 4 – Fotografia e esquema do reator UASB destinado à produção de ácidos carboxílicos.



Fonte: autor.

Para o controle de pH do meio instalou-se um controlador automático de pH, que mantinha o pH entre 5,0 e 5,3 por adição de hidróxido de sódio (NaOH) 50%, já que em condições normais de funcionamento do reator, o sistema tende à acidificação. O biogás produzido no reator foi monitorado com a utilização de um gasômetro Ritter, conectado a um selo hídrico que forma um *headspace* no reator.

4.2. Substrato

O substrato utilizado foi produzido pela empresa Petróleo Brasileiro S.A (Petrobrás), na Usina de Biodiesel localizada no município do Quixadá, Ceará. O glicerol residual era gerado na fabricação de biodiesel oriundo de uma mistura de óleos vegetais (algodão e soja) em que, após o processo de transesterificação e refino do óleo, era separado do combustível em recipientes para o transporte até o Laboratório de Tecnologia da Biomassa. A figura 5 mostra uma fração do glicerol utilizado durante a pesquisa.

Figura 5 – Fotografia do glicerol residual utilizado durante a pesquisa.



Fonte: autor.

4.3. Alimentação

O reator foi alimentado com uma solução contendo glicerol diluído, juntamente com uma solução de macro e micro nutrientes e NaOH 50% para o ajuste de

pH. O substrato foi preparado em quantidade suficiente, aproximadamente 20 L, para manter a alimentação durante uma semana, sendo sempre mantido entre 5 °C e 8 °C em freezer horizontal Venax 245 L localizado ao lado do sistema. Para a adição de nutrientes foi utilizada uma solução concentrada de macro e micronutrientes (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição da solução estoque de macro e micronutrientes utilizados na alimentação do reator UASB.

Compostos da solução de macronutrientes	Concentração (g.L⁻¹)	Compostos da solução de micronutrientes	Concentração (g.L⁻¹)
NH ₄ H ₂ PO ₄	140,24	NiCl ₂ .6 H ₂ O	0,5
MgCl ₂ .6H ₂ O	12,85	Cu Cl ₂ .2 H ₂ O	0,25
CaCl ₂ .2 H ₂ O	7,79	NaMo ₄ .2 H ₂ O	0,75
KCl	5,84	MnCl ₂ .4 H ₂ O	0,75
H ₃ BO ₃	7,5	Na ₂ SeO ₃ . 5 H ₂ O	0,25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2,5	FeCl ₂ . 4 H ₂ O	0,58
Extrato de levedura	1		

Nota: Adaptado de Ding, Tan e Wang (2010) e Steinbruch *et al.* (2011).

A adição de etanol na solução de alimentação do experimento foi feita após o 80º dia de operação, com o intuito de avaliar a sua influência como doador de elétron no processo de alongamento de cadeia carboxílica. A mesma dosagem de 40 mM (0,04 mL) de etanol foi mantida até o final da pesquisa.

4.4. Parâmetros operacionais

O reator UASB utilizado já estava montado e inoculado com lodo proveniente da estação de tratamento de esgoto (ETE) Aracapé III da CAGECE (VIANA, 2016). O reator foi operado sem adição de inibidor químico para a inibição seletiva de bactérias

metanogênicas, e os parâmetros operacionais utilizados durante a pesquisa estão listados na Tabela 3:

Tabela 3 – Principais parâmetros operacionais utilizados nos reatores durante a pesquisa.

Parâmetros	Reator UASB
Período de operação (d)	263
COV (gDQO.L ⁻¹ .d ⁻¹)	8
TDH (d)	5
pH	5,0-5,3

4.5. Monitoramento do sistema

O monitoramento realizado durante a operação do reator UASB está apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 – Monitoramento realizado no reator UASB.

Variável	Frequência	Método de Referência
Alimentação (L)	3x semana	Volumetria
AGV afluente e efluente (g.L ⁻¹)	3x semana	CLAE
Biogás	Diariamente	Gasometria
Composição do biogás	2x semana	Cromatografia gasosa
DQO (mgDQO.L ⁻¹)	3x semana	5220 B ^(a)
pH	Online	4500 H ⁺ B ^(a)
Temperatura (°C)	Online	4500 B ^(a)
Vazão (L.d ⁻¹)	Diariamente	Relação volume/tempo
Sólidos totais, fixos e voláteis	Eventualmente	2540B ^(a) e 2540E ^(a)

Nota: (a) Metodologias descritas por Eaton *et al.* (2005).

A produção dos ácidos graxos voláteis (AGV) e as concentrações de glicerol e etanol foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – *High Performance Liquid Chromatographic*) através do cromatógrafo Shimadzu. Já a

determinação das concentrações de CO₂, CH₄ e H₂ do biogás foram determinadas por cromatógrafo gasoso (C2V-200 micro CG, *Thermo Fisher Scientific, The Netherlands*).

As determinações de DQO do efluente e afluente foram feitas a partir da retirada de alíquotas do recipiente de efluente e da solução de alimentação após a mesma ser feita. As análises eram feitas imediatamente após a coleta das amostras, com o intuito de utilizar amostras representativas e com menor possibilidade de alteração das condições predominantes. Sólidos totais fixos e voláteis foram determinados com alíquotas de 50 ml de lodo do reator UASB, em duplicada.

4.5.1. Cálculos

Para determinar o tempo de detenção hidráulica (TDH) e a carga orgânica volumétrica (COV), utilizaram-se respectivamente as equações 1 e 2.

$$TDH = \frac{V_{reator}}{Q_{af}} \quad (1)$$

$$COV = \frac{1}{TDH} \times (DQO_{af}) \quad (2)$$

Onde:

V_{reator} é o volume do reator em (L);

Q_{af} é a vazão do afluente em (L.d⁻¹) e

DQO_{af} é a concentração da DQO do afluente em (g.L⁻¹).

O rendimento de AGV, foi calculado pela Equação 3, em que são consideradas os valores de DQO da alimentação e dos produtos e a concentração dos principais produtos formados e consumidos.

$$R(\%) = \frac{DQO_p \times [C_p] \times V_{ef}}{DQO_s \times [C_s] \times V_{af}} \quad (3)$$

Onde:

DQOp: concentração da DQO teórica do ácido analisado;

[Cp]: concentração de ácido produzido em (g.L⁻¹);

Vef: volume de efluente gerado diariamente (L.d⁻¹);

DQOs: concentração da DQO teórica do substrato utilizado;

[Cs]: concentração de substrato consumido em (g.L⁻¹) e

Vaf: vazão do afluente consumido diariamente em (L.d⁻¹).

A DQO relativa dos metabólitos produzidos foi calculada pela Equação 4, em que são considerados os valores de DQO teórica de cada produto e as concentrações dos metabólitos obtidas durante o tempo de operação.

$$DQO_{relativa} = [Cp]x[DQOp] \quad (4)$$

Onde:

[Cp]: concentração de ácido produzido em (g.L⁻¹) e

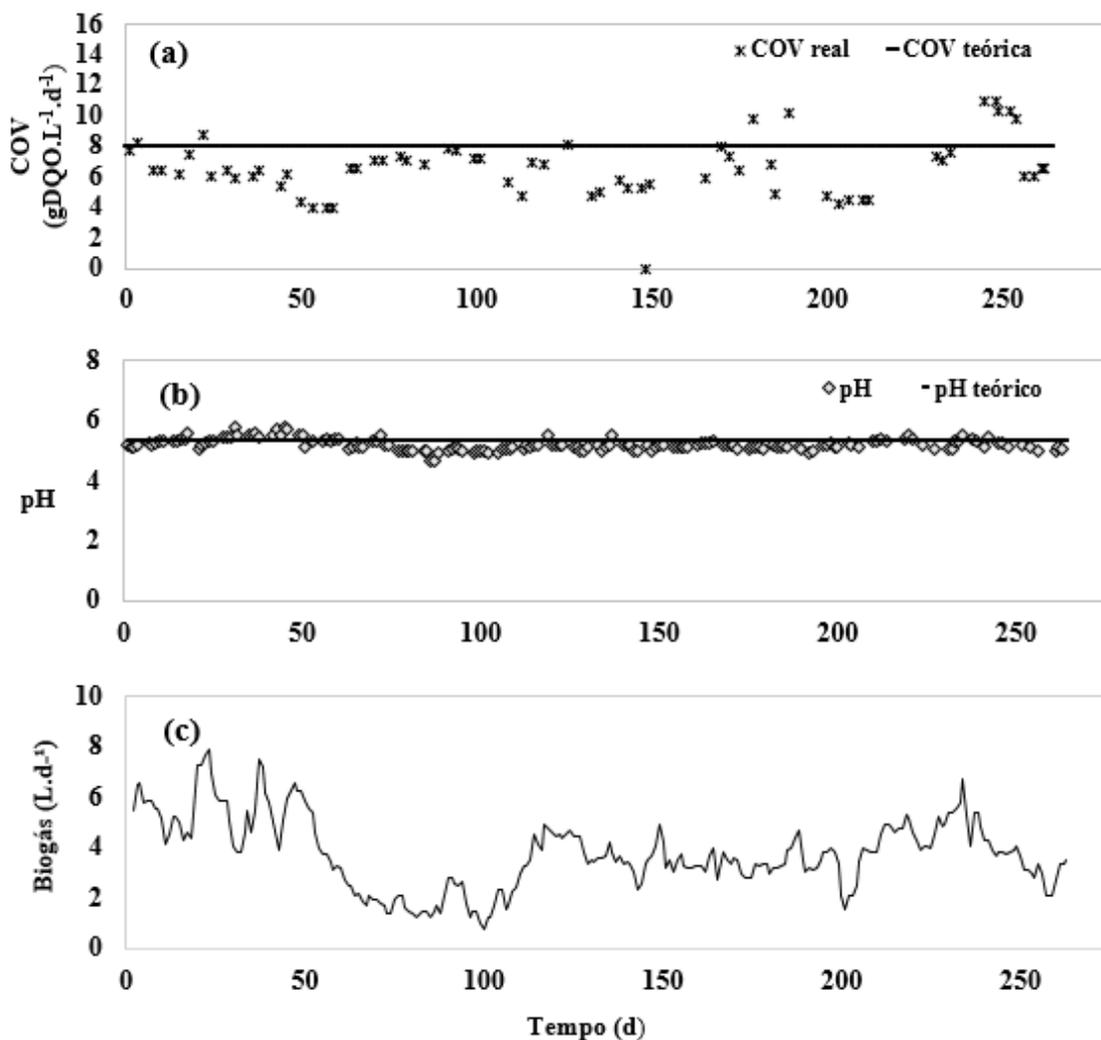
DQOp: fator de conversão da DQO do produto analisado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Principais parâmetros monitorados no reator UASB

Na figura 6 estão apresentados os principais parâmetros utilizados durante o monitoramento do reator.

Figura 6 – Parâmetros monitorados durante o período de operação do reator UASB: (a) variação da concentração da carga orgânica volumétrica aplicada no sistema em relação ao tempo, juntamente com a COV teórica definida para o experimento; (b) variação dos valores de pH monitorados e o valor teórico; e (c) a produção de biogás registrada diariamente pelo gasômetro do reator.



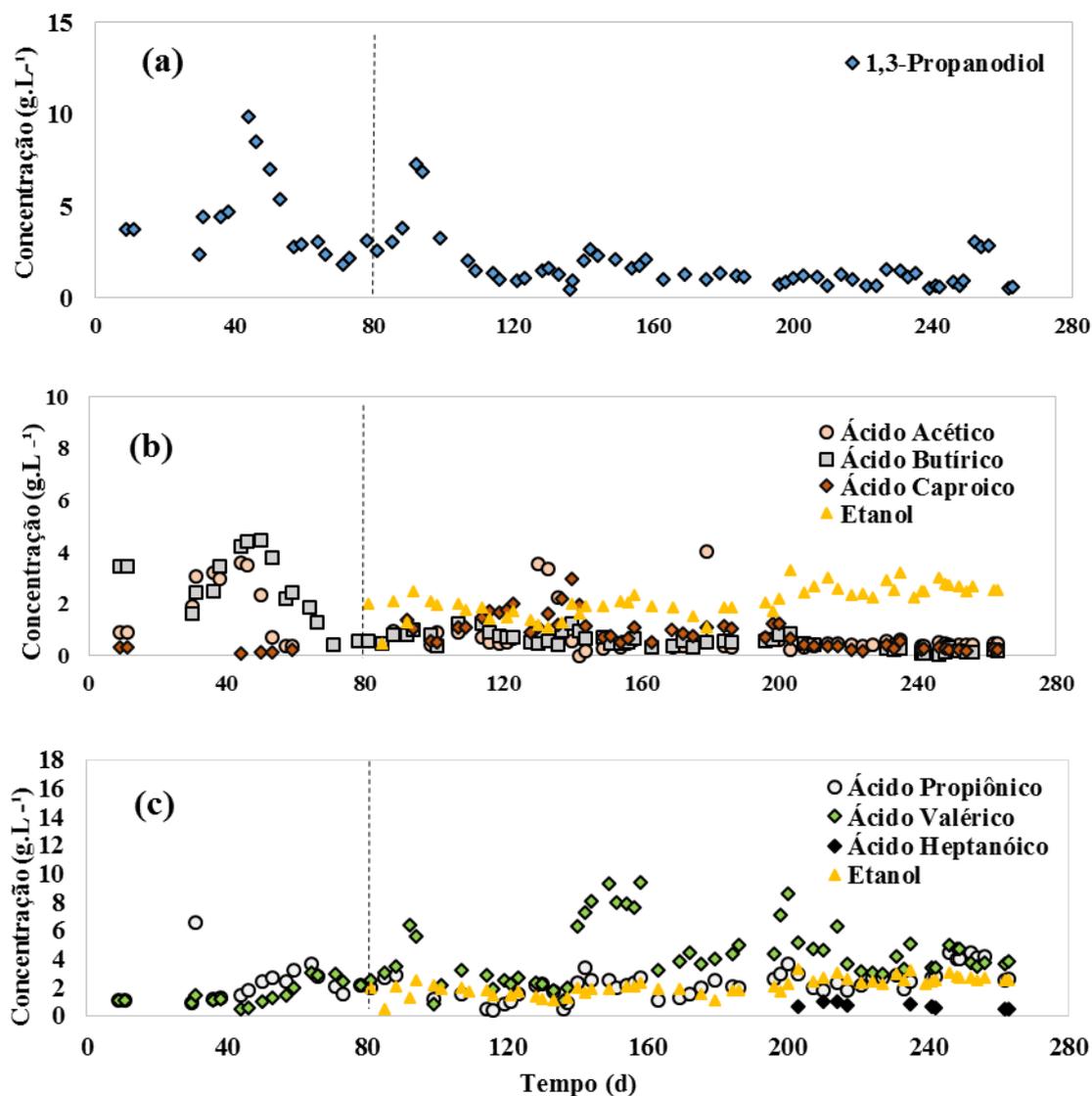
Durante toda a pesquisa, o reator UASB foi operado com a carga orgânica volumétrica de 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ e pH 5,3, baseado nos valores médios encontrados na literatura. Hutnan *et al.* (2009) utilizaram um reator anaeróbio em batelada de 4 L para produzir metano, e com o aumento gradual da COV até 8 gDQO.L⁻¹.d⁻¹, observaram aumento da produção de AGV's de 156 para 1720 mg.L⁻¹. Ge *et al.* (2015) operaram um reator anaeróbio em batelada sequencial (ASBR) de 5 L para gerar ácido caproico e com o aumento da COV de 3,89 para 10,7 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ e pH 5,5, obtiveram até 3,8 gC6.L⁻¹. Kucek *et al.* (2016), obtiveram concentração máxima de n-caproato de 3,0 g.L⁻¹, operando um filtro anaeróbio de fluxo ascendente de 0,4 L, pH 5,5 com sistema de extração, possibilitando o aumento da COV até 17,7 gDQO.L⁻¹.

O biogás produzido no sistema apresentou vazão média de 3,8 L.d⁻¹. Uma das principais causas da baixa produção de biogás foi devido a operação do sistema visar a obtenção de ácidos carboxílicos, a partir de um sistema com pH ácido para inibição da atividade metanogênica (STEINBUCH *et al.*, 2011). As condições operacionais resultaram na pouca produção de metano, um dos principais gases produzidos pela via anaeróbia, restando mais a produção do CO₂ e hidrogênio, o que influenciou diretamente na quantidade de biogás do reator.

5.2. Produção de ácidos carboxílicos de cadeia média e avaliação do processo de alongamento de cadeia carboxílica

A figura 7 mostra a variação da concentração dos principais metabólitos produzidos no reator em relação ao tempo de operação (263 d), no qual a partir do 80º dia de operação, adicionou-se etanol no substrato de alimentação.

Figura 7 – Principais metabólitos produzidos, (a) 1,3 – propanodiol, (b) ácidos carboxílicos de cadeia par, (c) ácidos carboxílicos de cadeia ímpar, durante o período de operação.



O 1,3-propanodiol (1,3-PDO) (figura 7a), foi produzido por processo de desidratação onde o 3-hidroxi propionato sofre redução, pela via redutora de fermentação do glicerol (BIEBL *et al.*, 1999). Por ser altamente específico e não ser obtido de outra conversão biológica (DECKWER, 1995), o 1,3-PDO é apontado como um dos principais produtos resultantes da degradação do glicerol (TEMUDO *et al.*, 2008). Além de não necessitar de etanol para a sua formação, quando os produtos da glicólise não conseguem

responder à demanda celular de oxidação NADH, a produção de 1,3 – PDO parece mais viável, apesar de haver menor ganho de energia (TEMUDO *et al.*, 2008).

Antes da adição de etanol, observou-se que a produção de 1,3-PDO atingiu 10 g.L^{-1} ($6,8 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) do metabólito (figura 7a). A redução na produção do 1,3-PDO no decorrer da operação deve-se, provavelmente, às condições operacionais do reator que visavam à geração de ácidos que são produtos da via oxidativa, outra rota metabólica do glicerol, além de se ter adicionado etanol com o intuito de melhorar o processo de alongamento de cadeia carboxílica. Nakazawa (2015), utilizou o glicerol como substrato em um reator UASB para a produção de biogás e 1,3-PDO, com COV de até $8,06 \text{ kg DQO/m}^3.\text{d}$ e obteve como produtos: 1,3-PDO, propanol e ácidos voláteis.

Os gráficos (b) e (c) representam a variação da produção dos principais ácidos carboxílicos gerados na fermentação em relação ao tempo de operação, sendo divididos respectivamente em AGV com números pares de átomos de carbono e AGV com números ímpares, demonstrando os ácidos envolvidos no processo de alongamento de cadeia carboxílica.

Através do processo de alongamento de cadeia carboxílica, a presença de ácido butírico no reator poderia influenciar positivamente no aumento do ácido caproico que permanecia baixo desde o início da operação (figura 7b), uma vez que o n-caproato é o próximo ácido carboxílico formado no alongamento. No entanto, observou-se pouca ocorrência desse processo no sistema, provavelmente devido à falta de etanol como doador de elétrons no experimento (SPIRITO *et al.*, 2014).

Com a adição de etanol no aflente dos reatores, houve uma melhora no PACC, a produção de ácido caproico chegou a $2,97 \text{ gC6.L}^{-1}$ ($6,62 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$). Para que sejam obtidas maiores concentrações de n-caproato no reator UASB com operação na faixa de pH 5,0 - 5,3, é necessário utilizar sistemas de extração de ácidos orgânicos, para não haver acúmulo de AGV não dissociados, que causam efeito tóxico na microbiota do reator e danificam o PACC (STEINBUSCH *et al.*, 2010).

A produção de ácidos carboxílicos com números ímpares de átomos de carbonos (figura 7c), foi maior comparada à dos ácidos de cadeia par, o que pode representar maior facilidade de geração desses ácidos pelo consórcio microbiano, já que

o glicerol possui três átomos de carbono, o que facilita o PACC com número ímpar. Segundo Coma *et al.* (2016), cadeias de carbono ímpares também podem ser produzidas quando os níveis de propionil-CoA celular estão elevados, havendo a sua incorporação no lugar de acetil-CoA no passo inicial da síntese de ácidos graxos. Sendo assim, o propionato (C3) será alongado para valerato (C5) e valerato (C5) em heptanoato (C7).

Como o ácido valérico foi o segundo metabólito mais produzido no sistema com $9,38 \text{ gC5.L}^{-1}$ ($19,13 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$), apenas não ultrapassando o 1,3-PDO, supôs-se que o próximo alongamento de cadeia, responsável pela produção do ácido heptanóico, pudesse estar ocorrendo, o que foi comprovado com o aumento do tempo de análise das amostras para verificar a presença de ácidos com mais números de átomos de carbono. A confirmação da existência do ácido heptanóico entre os outros ácidos, representa mais uma demonstração da melhor geração do alongamento de cadeia ímpar pelos microrganismos com o glicerol.

Para ambos os grupos de ácidos envolvidos no PACC, a adição de etanol apresentou pouca variação de concentração, o que pode representar a possibilidade da atuação também de outro composto como doador de elétrons no sistema, como o propanol. Através de incubações de comunidades microbianas, entre elas a *Clostridium kluyveri*, com diferentes substratos e análises termodinâmicas, Coma *et al.* (2016) verificaram que etanol e propanol são altamente adequados para o alongamento da cadeia. Quando o propanol foi fornecido, a degradação do substrato em propionato foi o processo principal, além do aumento do alongamento de cadeia em ácido valérico de 11 para 27% da produção total de AGV molar.

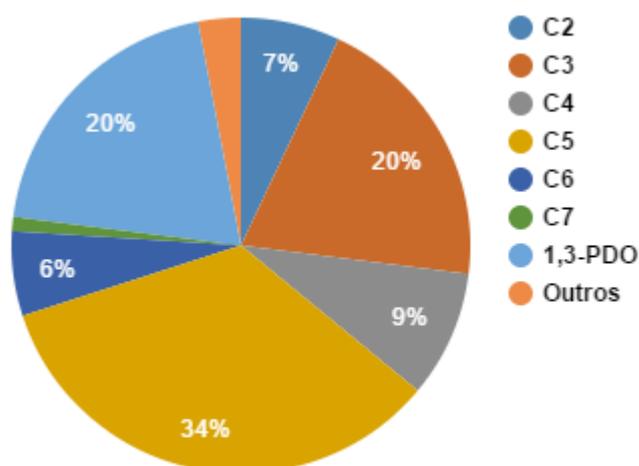
Outro fator que possivelmente contribuiu para o baixo consumo do etanol, foi o fato de a pesquisa ter sido realizada com um reator que já estava em operação anteriormente (VIANA, 2012), também com glicerol, o que pode ter gerado uma microbiota altamente específica, dificultando a assimilação do etanol pelos microrganismos em pequeno intervalo de tempo, já que as concentrações do mesmo praticamente não variaram no decorrer da operação, sendo pouco consumido.

5.3. Balanço de massa do sistema

A quantidade média de matéria orgânica afluyente ao reator UASB foi de 87,5 gDQO.d⁻¹. Dessa DQO de entrada, saíram do sistema 82,0 gDQO.d⁻¹ de metabólitos, entre eles os ácidos carboxílicos e 1,3-PDO, representando cerca de 94% da DQO de entrada, além de 1,9 gDQO.d⁻¹ referente ao biogás.

A figura 8 representa a distribuição dos principais metabólitos produzidos no reator.

Figura 8 – Porcentagem dos metabólitos gerados no reator UASB. (C2): ácido acético, (C3): ácido propiônico, (C4): ácido butírico, (C5): ácido valérico, (C6): ácido caproico, (C7): ácido heptanóico, 1,3-PDO e outros.

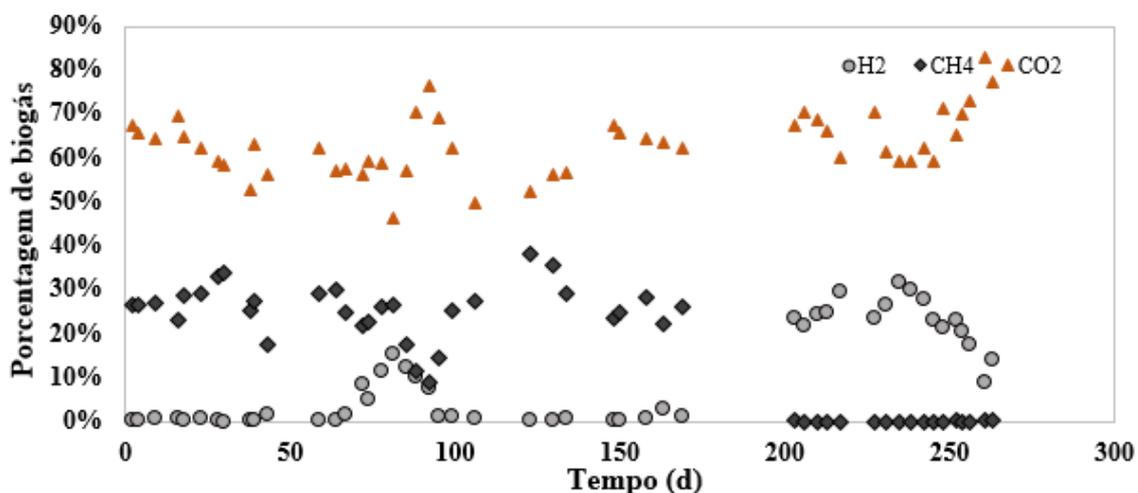


Os principais metabólitos gerados no reator UASB foram o ácido valérico, ácido propiônico e 1,3 – PDO (figura 8), totalizando mais de 70% dos metabólitos produzidos. Como demonstrado no item (5.2), foi detectado no sistema concentração elevada de compostos carboxílicos de cadeia ímpar, além do 1,3-PDO, produto de outra rota metabólica do glicerol, bem como uma baixa produção de ácido caproico comparado aos demais metabólitos.

5.4. Produção de biogás e inibição da atividade metanogênica

A figura 9 representa a porcentagem dos gases, hidrogênio (H₂), metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) presentes no biogás produzido no reator UASB durante todo o período de operação.

Figura 9 – Porcentagem dos gases presentes no biogás do reator UASB.



O gás predominante no biogás gerado no reator UASB foi o CO₂, (63%). Uma das principais formas de produção do CO₂ é a fermentação primária na digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2007), o que justificaria a alta concentração em reatores que utilizam substratos complexos, como o glicerol, que não está prontamente disponível para a biomassa.

O hidrogênio representou, em média, cerca de 10% do volume de biogás, seguido por 17% de metano. As concentrações de H₂ e CH₄ obtidas, foram as esperadas a partir das condições operacionais utilizadas: pH baixo, substrato complexo e inóculo que pode conter alta densidade de archaeas metanogênicas hidrogenotróficas (AMH) do sistema em questão.

O processo de inibição da atividade metanogênica nos reatores ocorreu a partir da manutenção do pH dos sistemas entre 5,0 e 5,3, em vez de se optar pelo estresse térmico, ou pela utilização de um inibidor químico, clorofórmio ou 2-bromoetanossulfônico (STEINBUCH *et al.*, 2011). A utilização de clorofórmio contribui

para a geração de um efluente com maior potencial de dano ao meio ambiente (CAVALCANTE, 2016) e também em um custo maior de operação.

Como o metano é um gás que pode ser produzido tanto por archaeas metanogênicas acetoclásticas (AMA) quanto por hidrogenotróficas (AMH), pode-se observar que a manutenção do pH foi eficaz na inibição da atividade das AMA, que são mais sensíveis à esse parâmetro (HWANG *et al.*, 2004), resultando no consumo do hidrogênio existente no meio para a geração de metano. O metano presente no sistema, possivelmente produzido pelas hidrogenotróficas, não representa risco significativo à produção de ácidos carboxílicos de cadeia média, pois as AMA, diferentemente das AMH, consomem o ácido acético primordial no PACC e geração de ácido caproico.

6. CONCLUSÕES

- Glicerol pode ser usado para produção de ácidos carboxílicos com números ímpares de átomo de carbono, como o ácido propiônico, ácido valérico e ácido heptanóico.
- Houve pouca influência do etanol no processo de alongamento de cadeia carboxílica do sistema, o que pode significar que houve a produção interna de propanol no sistema e sua atuação como doador de elétrons.
- O pH estudado foi suficiente para inibir bactérias metanogênicas, não necessitando da utilização de inibidores químicos.

7. REFERÊNCIAS

AGHZZAF, A. Aït et al. Heptanoic acid adsorption on grafted palygorskite and its application as controlled-release corrosion inhibitor of steel. **Materials Chemistry And Physics**, [s.l.], v. 148, n. 1-2, p.335-342, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2014.07.052>.

AGLER, M. T. et al. Chain elongation with reactor microbiomes: upgrading dilute ethanol to medium-chain carboxylates. **Energy & Environmental Science**, v.5, p.8189-8192, 2012.

AGLER, M. T. et al. Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform. **Trends in Biotechnology**, Special Issue – Applied Microbiology, v.29, n.2, p.70-78, 2011.

ANGELIDAKI, I. et al. Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI). **Technical University Of Denmark**. Praga, p. 1-29. 10 out. 2006.

ANGENENT, LARGUS T. et al. Chain Elongation with Reactor Microbiomes: Open-Culture Biotechnology To Produce Biochemicals. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 50, n. 6, p.2796-2810, 15 mar. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.5b04847>.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, BRASIL. **Biodiesel**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis/biodiesel>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

APHA. **Standart methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed. Washigton: American Public Health Association, 2005.

AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, n.2, p.192-201, 2007.

BIELB, H. et al. Microbial production of 1,3-propanediol and 2,3-butanediol by *Klebsiella pneumoniae*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 50, n. 1, p.24, 1998.

BRASIL, **LEI Nº 13.263, DE 23 DE MARÇO DE 2016**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2016/lei/L13263.htm>. Acesso em: 23 dez. 2016.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. **Biodiesel**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis/biodiesel>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

CAVALCANTE, Willame de Araújo. **Fermentação anaeróbia para formação de ácido caproico a partir de produtos e subprodutos da cadeia produtiva da cana-de-açúcar**. 2016. 136 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores Anaeróbios**. 2 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 1997.

COMA, Marta et al. Product Diversity Linked to Substrate Usage in Chain Elongation by Mixed-Culture Fermentation. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 50, n. 12, p.6467-6476, 21 jun. 2016. American Chemical Society (ACS).

CONTINO, Francesco et al. Combustion and Emissions Characteristics of Valeric Biofuels in a Compression Ignition Engine. **J. Energy Eng.**, , p.1-6, 2013.

DAS, G.; TRIVEDI, R. K.; VASISHTHA, A. K. Heptaldehyde and undecylenic acid from castor oil. **Journal Of The American Oil Chemists' Society**, [s.l.], v. 66, n. 7, p.938-941, jul. 1989. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02682613>.

DECKWER, W.D. Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 16, p. 143-149, 1995.

DEKISHIMA, Yasumasa et al. Extending Carbon Chain Length of 1-Butanol Pathway for 1-Hexanol Synthesis from Glucose by Engineered *Escherichia coli*. **Journal Of The American Chemical Society**, [s.l.], v. 133, n. 30, p.11399-11401, 3 ago. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja203814d>.

DIETZ, D.; ZENG A. P. Efficient production of 1,3-propanediol from fermentation of crude glycerol with mixed cultures in a simple medium. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 37, p. 225-233, 2014.

DING, Hong-bo; TAN, Giin-yu Amy; WANG, Jing-yuan. Caproate formation in mixed-culture fermentative hydrogen production. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 101, n. 24, p.9550-9559, dez. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.056>.

GE, S. et al. Long-Term *n*-Caproic Acid Production from Yeast-Fermentation Beer in an Anaerobic Bioreactor with Continuous Product Extraction. **Environmental Science Technology**, p. 8012–8021, 2015.

GROOTSCHOLTEN, T. I. M. et al. Promoting chain elongation in mixed culture acidification reactors by addition of ethanol. **Biomass and Bioenergy**, v. 48, p. 10–16, 2013a.

GROOTSCHOLTEN, T. I. M. et al. Two-stage medium chain fatty acid (MCFA) production from municipal solid waste and ethanol. **Applied Energy**, v. 116, p. 223–229, mar. 2014.

HANAKI, K; MATSUO, T.; NAGASE, M. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process. **Biotechnology and Bioengineering**, v.23, p. 1591-1610, 1981.

HORIUCHI, J.-I. et al. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. **Bioresource Technology**, v.82, p.209-213, 2002.

HIMMEL, M. E. et al. Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production. **Science**, [s.l.], v. 315, n. 5813, p.804-807, 9 fev. 2007. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1137016>.

HUTNAN, M. et al. Possibilities of anaerobic treatment of crude glycerol from biodiesel production. **36th International Conference of SSCHE**, p.156-1 – 156-13, 2009.

HWANG, M. H. et al. Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH. **Journal of biotechnology**, v.111, n. 3, p. 297–309, 2004.

ITO, T. et al. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. **Biosci Bioeng**, v. 100, n. 3, p. 260-265, 2005.

KUCEK, Leo A. et al. Conversion of l-lactate into n-caproate by a continuously fed reactor microbiome. **Water Research**, [s.l.], v. 93, p.163-171, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.018>.

LANGE, Jean-paul et al. Valeric Biofuels: A Platform of Cellulosic Transportation Fuels. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 49, n. 26, p.4479-4483, 9 jun. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201000655>.

LEE, W. S. et al. A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. **Chemical Engineering Journal**, v. 235, p. 83–99, jan.2014.

LETTINGA, G; HULSHOF POL, L. W.; ZEEMAN, G. Biological wastewater treatment. Part I: Anaerobic wastewater treatment. Lecture notes. Wageningen, The Netherlands: Wageningen University, 1999.

LETTINGA, G. et al. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and bioengineering**, v.22, p. 699-734, 1980.

LIEBERGESELL, Matthias et al. Formation of poly(3-hydroxyalkanoates) by phototrophic and chemolithotrophic bacteria. **Archives Of Microbiology**, [s.l.], v. 155, n. 5, p.415-421, abr. 1991. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00244955>.

LIU, S. et al. Butyric acid from anaerobic fermentation of lignocellulosic biomass hydrolysates by *Clostridium tyrobutyricum* strain RPT-4213. **Bioresource technology**, v. 143, p. 322–9, set. 2013.

LIU, Y. et al. Short chain fatty acids accumulation and microbial community succession during ultrasonic-pretreated sludge anaerobic fermentation process: Effect of alkaline adjustment. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 94, p. 128–133, out. 2014.

NAKAZAWA, Mitsue Maia. **Aproveitamento de glicerol para a produção de biogás ou 1,3-propanodiol em reator UASB**. 2015. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

NAGAO, Koji; YANAGITA, Teruyoshi. Medium-chain fatty acids: Functional lipids for the prevention and treatment of the metabolic syndrome. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 61, n. 3, p.208-212, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2009.11.007>.

OLIVEIRA, Flávia C.C. et al. Biodiesel: Possibilidades e Desafios. **Química e Sociedade**, v. 28, n. 5, p.3-5, 23 mar. 2007.

PACHAURI, Naresh; HE, Brian. Value-added Utilization of Crude Glycerol from Biodiesel Production: A Survey of Current Research Activities. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, Oregon, p.16, 2006.

POPJAK, G. et al. Mode of Formation of Milk Fatty Acids from Acetate in the Goat. **Biochem Journal**, v.48, n.5, p.612-618, 1951.

TOLMASQUIM, Mauricio T. **Fontes Renováveis de Energia no Brasil**. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.

TORELLA, J. P. et al. Tailored fatty acid synthesis via dynamic control of fatty acid elongation. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 110, n. 28, p.11290-11295, 24 jun. 2013. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1307129110>.

RENZ, Michael. Ketonization of Carboxylic Acids by Decarboxylation: Mechanism and Scope. **European Journal Of Organic Chemistry**, [s.l.], v. 2005, n. 6, p.979-988, mar. 2005. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.200400546>.

RICACZESKI, C. C. et al. Biodiesel, um combustível em expansão. **Synergismus scyentifica** UTFPR, Pato Branco, v. 1, n. 1-4, p. 324-330, 2006.

RYWÍNSKA, A. et al. Biosynthesis of citric acid from glycerol by acetate mutants of *yarrowia lipolytica* in fed-batch fermentation. **Food Technol. Biotechnol.**, v.47, n. 1, p.1-6, 2009.

ROSSI, R. et al. Recent advances in the use of fatty acids as supplements in pig diets: A review. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 162, n. 1-2, p.1-11, nov. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.08.013>.

SILES LÓPEZ, J.A. et al. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource technology**, v.100, n.23, p.5609-5615, 2009.

SPIRITO, C. M. et al. Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste. **Current opinion in biotechnology**, v. 27, p. 115–22, jun. 2014.

STADTMAN, E.R.; BARKER, H. A. Fatty acid synthesis by enzyme preparations of *Clostridium Kluyveri*. **The journal of biological chemistry**, v. 184, p. 769-794, 1950.

STEINBUSCH, K. J. J. et al. Biological formation of caproate and caprylate from acetate: fuel and chemical production from low grade biomass. **Energy & Environmental Science**, v. 4, n. 1, p. 216–224, doi:10.1039/C0EE00282H, 2011.

SUAREZ, Paulo A. Z. et al. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p.667-676, 2007.

TEMUDO, M. F. et al. Glycerol fermentation by (open) mixed cultures: a chemostat study. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, p 1088-1098, 2008.

VIANA, M. B. **Digestão anaeróbia do glicerol oriundo da produção do biodiesel: alternativas para geração de energia e produtos de alto valor agregado**. 2016. 160 f.

Tese (Doutorado em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

VIANA, M. B. et al. Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. **Environmental Technology Reviews**, v.1, p. 82-92, 2012.

WANG, Z. X. et al. Glycerol production by microbial fermentation: a review. **Biotechnology Advances**, v.19, n.3, p.201-223, 2001.

WASEWAR, Kailas L.; SHENDE, Diwakar Z.. Extraction of Caproic Acid Using Tri-n-butyl Phosphate in Benzene and Toluene at 301 K. **Journal Of Chemical & Engineering Data**, [s.l.], v. 55, n. 9, p.4121-4125, 9 set. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/je100337m>.

WOOLFORD, Michael K.. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (c1-c12) as potential silage additives. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.219-228, fev. 1975. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740260213>.

YAZDANI, Syed Shams; GONZALEZ, Ramon. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.213-219, jun. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2007.05.002>.