



## II-562 - PRODUÇÃO DE ÁCIDO CAPROICO A PARTIR DE RESÍDUOS ORGÂNICOS ATRAVÉS DE PROCESSOS ANAERÓBIOS

**Alyne Soares Cabral Antunes<sup>(1)</sup>**

Engenheira Civil pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Mestre em Recursos Hídricos e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Doutoranda em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos na UFPE.

**Jennefer Luisy Guedes Machado**

Graduanda em Engenharia Civil pela UFPE. Iniciação Científica em Tecnologia Ambiental na UFPE.

**Marcos Vinícius de Freitas Palmeira Gonçalves**

Graduando em Ciências Biológicas pela UFPE. Iniciação Científica em Tecnologia Ambiental na UFPE.

**Devson Paulo Palma Gomes**

Engenheiro Ambiental pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). Mestre e doutor em Engenharia Civil na área de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Parte do doutorado foi realizado na Universidade Autônoma do México (UNAM). Professor efetivo no Instituto Federal de Pernambuco (IFPE).

**Maria de Lourdes Florêncio dos Santos**

Engenheira Civil pela UFPE. Mestre em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP. Doutora em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela WAU. Pós-doutora pela *Delft University of Technology* (TUDELFT). Professora titular do Departamento de Engenharia Civil da UFPE.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Avenida Acadêmico Hélio Ramos, s/n – Cidade Universitária - Recife - PE - CEP: 50670530 - Brasil - Tel: (81) 21268219 - e-mail: alyne.soares@ufpe.br

### RESUMO

A produção de ácido caproico a partir de resíduos orgânicos via processos anaeróbios é uma abordagem inovadora para a gestão sustentável de resíduos e a geração de produtos de valor agregado. Este trabalho investiga o uso de glicerol residual e de vinhaça como substratos para a produção de ácido caproico, utilizando reatores em batelada sob condições anaeróbias. O inóculo utilizado foi lodo de cervejaria aclimatado para inibir a produção de metano. Os experimentos foram realizados em reatores de 250 mL, com pH inicial neutro e suplementação de nutrientes. Foram analisados reatores sem e com adição de 100 mM de etanol. Os resultados mostraram que a vinhaça, quando suplementada com etanol, proporcionou a maior produção de ácido caproico, atingindo concentrações de até  $5,70 \pm 0,21$  g/L. O glicerol, embora apresentasse potencial, mostrou-se menos eficiente, possivelmente, devido à sua elevada impureza. Este estudo destaca a importância da aclimação do inóculo e da adição de etanol na promoção do alongamento de cadeia e produção de ácido caproico. A utilização de resíduos como glicerol e vinhaça não só reduz os custos de produção, como também contribui para a mitigação de impactos ambientais associados ao descarte inadequado desses subprodutos. Em conclusão, a conversão de resíduos orgânicos em ácido caproico por meio de fermentação anaeróbia é possível com vinhaça e glicerol como substratos, sendo os melhores resultados obtidos com a vinhaça. Esta abordagem oferece uma solução para o gerenciamento de resíduos e abre caminhos para a produção sustentável de bioprodutos de alto valor agregado, alinhando-se às tendências atuais de economia circular e sustentabilidade ambiental.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácido Hexanóico, Fermentação Anaeróbia, Alongamento de Cadeia de Carbono, Glicerol, Vinhaça.

### INTRODUÇÃO

Atualmente, enfrentamos desafios relacionados à crescente geração de resíduos e à dependência por matérias-primas fósseis. No entanto, existem tecnologias que podem transformar esses problemas em oportunidades, gerando produtos de valor agregado, enquanto reciclam nutrientes e água (Agler et al., 2011). A digestão anaeróbia é uma dessas tecnologias, mas o principal produto gerado, o metano, possui baixo valor comercial. Diante disso, a fermentação anaeróbica para a produção de ácidos carboxílicos de cadeia média (ACCM),



como o ácido caproico (ou ácido hexanóico), tem se destacado como uma alternativa promissora para o aproveitamento de resíduos (Gazzola et al., 2022).

O ácido caproico vem sendo reconhecido como um dos subprodutos anaeróbios mais rentáveis, visto que pode servir como matéria-prima para produtos químicos industriais e biocombustíveis (Wu et al., 2021). Para converter substratos orgânicos em ácido caproico em condições anaeróbias, é necessária a presença de um doador de elétrons (como etanol, hidrogênio ou ácido láctico) e inibir a produção de metano. O processo de formação do ácido caproico ocorre através da plataforma de carboxilatos e envolve o alongamento da cadeia por meio de um processo cíclico, que inclui a adição de uma molécula de acetil-CoA (originada do doador de elétrons) ao carboxilato, resultando na adição de dois carbonos por vez (Angenent et al., 2016).

A maioria dos estudos para obtenção de ácido caproico é baseada na utilização de substratos sintéticos (como etanol e ácido acético), processo que envolve custo de matéria-prima (Cavalcante et al., 2020). Para minimizar os custos de produção, a obtenção de ácidos a partir de resíduos orgânicos está sendo explorada (Coelho et al., 2020 e Gavazza et al., 2021).

Entre os possíveis resíduos que podem ser utilizados para tal fim, temos o glicerol e a vinhaça. O glicerol, um subproduto da produção de biodiesel, possui potencial para ser transformado em ácido caproico, uma vez que é uma fonte de carbono altamente biodegradável (Coelho et al., 2020). A vinhaça, principal subproduto da produção de etanol a partir da cana-de-açúcar, também pode ser utilizada para a obtenção de metabólitos solúveis de valor agregado (Eng Sánchez et al., 2021).

O presente trabalho visa a produção de ácido caproico de base biológica a partir de substratos orgânicos, glicerol residual e vinhaça, em reatores de batelada sob condições anaeróbias. O objetivo é integrar a gestão de resíduos orgânicos à produção de um produto de alto valor agregado em condições não estéreis. Para isso, foram desenvolvidas estratégias que favorecem a conversão eficiente do substrato em ácido caproico, visando a redução dos custos de produção.

O desenvolvimento desse trabalho contou com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Glicerol residual e vinhaça foram utilizados como substratos nos experimentos para a produção de produtos de valor agregado, com foco no ácido caproico. O glicerol foi proveniente da produção de biodiesel a partir de óleo de fritura e álcool. Devido ao alto grau de impureza do glicerol bruto, foi realizado um processo de purificação por acidificação ( $\text{pH} \approx 3$ ) com HCl concentrado, seguido pela separação de fases em um funil de separação (Bansod et al., 2024). A vinhaça foi coletada em uma usina de produção de açúcar e álcool a partir da cana-de-açúcar.

O inóculo utilizado consiste em lodo de cervejaria proveniente de um reator anaeróbio de circulação interna, operando sob condições mesofílicas em uma indústria de cervejaria. Para inibir a atividade metanogênica, o lodo de cervejaria foi aclimatado com clorofórmio (0,5% v/v), conforme descrito por Coelho et al. (2020). Adicionalmente, foram acrescentados 100 mM (4,61 g/L) de etanol, 5 g/L de glicerol, e o pH inicial foi ajustado para 5,51 com HCl. Tanto os substratos quanto o inóculo foram armazenados a 4 °C até serem utilizados nos experimentos de batelada.

Os testes para analisar a produção de produtos de valor agregado foram realizados em reatores em batelada de 250 mL, em triplicata, com *headspace* de 30%. Para cada experimento, foi adicionado substrato, inóculo, solução nutriente e água deionizada para alcançar o volume útil e as concentrações desejadas de inóculo e substrato. A solução de nutrientes utilizada foi de acordo com Veras et al. (2020), composta por macronutrientes e micronutrientes, incluindo extrato de levedura. O pH foi ajustado para cerca de 7 com uma solução de NaOH 40% (m/v) ou HCl (1M), lembrando da adição de 1g de  $\text{NaHCO}_3/\text{g DQO}_{\text{adicionada}}$  como tampão (Cavalcante et al., 2020). Após essas etapas, o *headspace* foi purgado com gás nitrogênio e a incubação foi realizada em uma sala termostatizada (30 °C) sob rotação de 130 rpm. Foram analisados reatores

sem e com adição de 100 mM de etanol. Reatores controle (sem substratos) também foram preparados para avaliar a produção de ácidos e biogás pelo inóculo.

Os métodos analíticos para ST, SV, DQO e pH seguiram as diretrizes do APHA (2012). O teor de glicerina foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência. As concentrações dos ácidos carboxílicos foram determinadas por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama. Para isso, foram coletadas 2,0 mL de amostra duas vezes por semana, centrifugadas a 16000 rpm por 10 minutos e armazenadas a -20 °C. Além disso, a produção de biogás foi analisada por cromatógrafo gasoso Agilent Technologies 7890 A.

## RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta a caracterização do glicerol bruto, do glicerol acidificado e da vinhaça. Em relação ao glicerol, após o processo de purificação, o percentual de glicerina aumentou de 27,24% para 42,07%, tornando a glicerina acidificada o substrato escolhido para os próximos experimentos. É importante destacar que o teor de matéria orgânica da vinhaça corresponde a aproximadamente 3,3% ao teor do glicerol acidificado.

O lodo de cervejaria foi caracterizado por um teor de sólidos totais voláteis de  $40,17 \pm 0,37$  g STV/L. Após 45 dias de aclimação, observou-se a ausência de metano no biogás. Portanto, a aclimação do lodo inibiu a metanogênese, indicando a eficácia do método de inibição. Esse método também foi empregado por Coelho et al. (2020) e não detectaram produção de metano em seus experimentos em batelada.

O glicerol acidificado apresenta alto teor de matéria orgânica ( $1060,66 \pm 16,71$  g O<sub>2</sub>/L, em termos de DQO), indicando que pode ser uma fonte de carbono facilmente biodegradável (Coelho et al., 2020). A vinhaça também tem teor de matéria orgânica ( $35,05 \pm 0,15$  g O<sub>2</sub>/L, em termos de DQO) que apresenta potencial de ser convertido em produtos de alto valor agregado, como o ácido caproico.

**Tabela 1- Caracterização do glicerol bruto e após purificação e da vinhaça (média  $\pm$  desvio padrão).**

Parâmetros	Glicerol bruto	Glicerol acidificado	Vinhaça
pH	8,21	3,31	3,76
Teor de glicerina (% m/m)	27,24%	42,07%	-
DQO total (g O <sub>2</sub> /L)	$1454,82 \pm 24,37$	$1060,66 \pm 16,71$	$35,05 \pm 0,15$
Sólidos totais (g/L)	$577,42 \pm 15,33$	$398,75 \pm 16,22$	$27,49 \pm 1,59$
Sólidos totais voláteis (g/L)	$529,17 \pm 15,33$	$339,11 \pm 8,86$	$21,30 \pm 1,71$
SV/ST (%)	91,64%	85,04%	77,46%

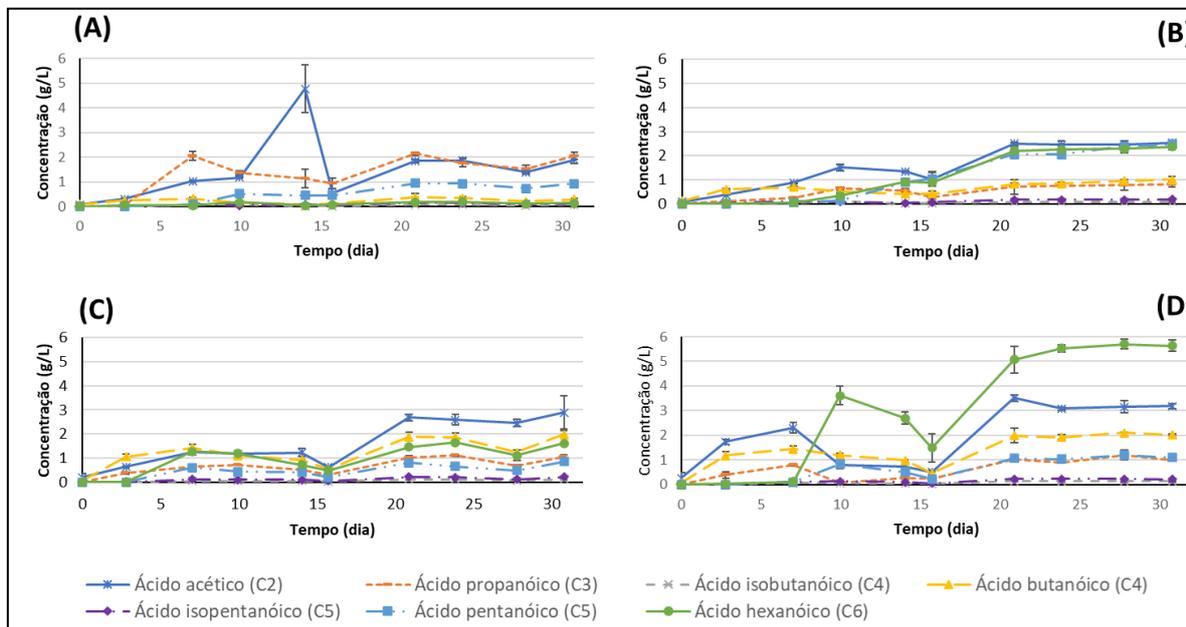
As variações de concentração dos ácidos carboxílicos durante os experimentos em batelada estão representadas na Figura 1. A maior concentração de ácido caproico ( $5,70 \pm 0,21$  g/L) foi obtida quando a vinhaça foi utilizada como substrato e houve adição de etanol (Figura 1 (D)). A suplementação de etanol estimulou o alongamento de cadeia com os dois substratos estudados, mas com o glicerol a concentração máxima obtida foi de  $2,36 \pm 0,11$  g/L (Figura 1 (B)). Sem a adição de etanol a concentração máxima de ácido caproico obtida foi de  $0,19 \pm 0,01$  g/L e  $1,65 \pm 0,03$  g/L com o glicerol e a vinhaça, respectivamente (Figura 1 (A) e (C)). No controle (sem adição de substratos) a máxima produção de ácido caproico obtida foi de  $0,35 \pm 0,02$  g/L.

Nos reatores com vinhaça a produção de ácido caproico foi mais elevada em comparação com os reatores com glicerol. Essa menor eficiência de conversão do glicerol possivelmente está relacionada ao elevado grau de impureza presente nesse subproduto da geração de biodiesel (Alves et al., 2022).

Os resultados obtidos corroboram a capacidade de adaptação do inóculo de cultura mista para o processo de alongamento de cadeia. Outros fatores, possivelmente, também contribuíram para a produção de ácido



capróico, como a adição de extrato de levedura, o pH neutro e a presença de bicarbonato de sódio, o qual é uma fonte de carbono inorgânico e estimula a produção de ácido capróico (San-Valero et al., 2020).



**Figura 1: Produção de ácidos carboxílicos em função do tempo para diferentes substratos com e sem adição de etanol. (A) glicerol sem adição de etanol (B) glicerol com adição de etanol (C) vinhaça sem adição de etanol (D) vinhaça com adição de etanol.**

## CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

A revisão bibliográfica e a caracterização do glicerol acidificado e da vinhaça sugerem o potencial desses subprodutos industriais de serem convertidos em ácido caproico por meio de processos anaeróbicos. A eficácia do clorofórmio como inibidor químico foi comprovada, pois evitou a metanogênese, o que favorece o processo de alongamento de cadeia.

A suplementação de etanol estimulou o alongamento de cadeia com os dois substratos estudados. Os resultados mostraram que os reatores com vinhaça e adição de etanol alcançaram a maior concentração de ácido caproico, com valores de até  $5,70 \pm 0,21$  g/L, superando o glicerol residual, que apresentou uma concentração máxima de  $2,36 \pm 0,11$  g/L quando também suplementado com etanol. Esta diferença pode ser atribuída ao maior teor de impurezas do glicerol bruto, que impactou negativamente na eficiência de conversão.

Portanto, o estudo demonstra que a vinhaça é um substrato mais adequado que o glicerol residual para a produção de ácido caproico em processos anaeróbicos. A aplicação de estratégias de suplementação de etanol e aclimação do inóculo são fundamentais para otimizar a produção. Esses achados contribuem para o desenvolvimento de processos mais eficientes e sustentáveis na gestão de resíduos orgânicos e produção de bioprodutos de valor agregado.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGLER, M. T.; WRENN, B. A.; ZINDER, S. H.; ANGENENT, L. T. Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: The carboxylate platform. *Trends in Biotechnology*, v. 29, n. 2, p. 70–78, 2011.
2. ALVES, I. R. F. S.; MAHLER, C. F.; OLIVEIRA, L. B.; REIS, M. M.; BASSIN, J. P. Investigating the effect of crude glycerol from biodiesel industry on the anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in ternary mixtures. *Energy*, v. 241, 15 fev. 2022.
3. ANGENENT, L. T.; RICHTER, H.; BUCKEL, W.; et al. Chain Elongation with Reactor Microbiomes: Open-Culture Biotechnology to Produce Biochemicals. *Environmental Science and Technology*, v. 50, n. 6, p. 2796–2810, 2016. American Chemical Society.
4. APHA; AWWA; WPCF. *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22o ed. Washington, DC, USA: American Public Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 2012.
5. BANSOD, Y., CRABBE, B., FORSTER, L., GHASEMZADEH, K., & D'AGOSTINO, C. Evaluating the environmental impact of crude glycerol purification derived from biodiesel production: A comparative life cycle assessment study. *Journal of Cleaner Production*, 2024.
6. CAVALCANTE, W. A.; GEHRING, T. A.; SANTAELLA, S. T.; et al. Upgrading sugarcane biorefineries: Acetate addition allows for conversion of fermented sugarcane molasses into high-value medium chain carboxylic acids. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 8, n. 2, 2020. Elsevier Ltd.
7. COELHO, M. M. H.; MORAIS, N. W. S.; FERREIRA, T. J. T.; et al. Carboxylic acids production using residual glycerol as a substrate in anaerobic fermentation: A kinetic modeling study. *Biomass and Bioenergy*, v. 143, 2020. Elsevier Ltd.
8. ENG SÁNCHEZ, F.; TADEU FUESS, L.; SOARES CAVALCANTE, G.; ÂNGELA TALARICO ADORNO, M.; ZAIAT, M. Value-added soluble metabolite production from sugarcane vinasse within the carboxylate platform: An application of the anaerobic biorefinery beyond biogas production. *Fuel*, v. 286, 2021. Elsevier Ltd.
9. GAVAZZA, S.; AMORIM, N. C. S.; KATO, M. T.; FLORENCIO, L.; AMORIM, E. L. C. Caproic Acid Formation by Carbon Chain Elongation During Fermentative Hydrogen Production of Cassava Wastewater. *Waste and Biomass Valorization*, v. 12, n. 5, p. 2365–2373, 2021. Springer Science and Business Media B.V.
10. GAZZOLA, G.; MARIA BRAGUGLIA, C.; CROGNALE, S.; et al. Biorefining food waste through the anaerobic conversion of endogenous lactate into caproate: A fragile balance between microbial substrate utilization and product inhibition. *Waste Management*, v. 150, p. 328–338, 2022. Elsevier Ltd.
11. SAN-VALERO, P.; ABUBACKAR, H. N.; VEIGA, M. C.; KENNES, C. Effect of pH, yeast extract and inorganic carbon on chain elongation for hexanoic acid production. *Bioresource Technology*, v. 300, 1 mar. 2020.
12. VERAS, S. T. S.; CAVALCANTE, W. A.; GEHRING, T. A.; RIBEIRO, A. R.; FERREIRA, T. J. T.; KATO, M. T.; ROJAS-OJEDA, P.; SANZ-MARTIN, J. L.; LEITÃO, R. C. Anaerobic production of valeric acid from crude glycerol via chain elongation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 17, n. 3, p. 1847–1858, 2020.
13. WU, S. L.; LUO, G.; SUN, J.; et al. Medium chain fatty acids production from anaerobic fermentation of waste activated sludge. *Journal of Cleaner Production*, v. 279, 2021. Elsevier Ltd.