

II-059 AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DO USO DE LODO GRANULAR E LODO FLOCULENTO NA PRODUÇÃO DE ÁCIDOS DE CADEIA MÉDIA A PARTIR DE GLICEROL

Shyrlane Torres Soares Veras⁽¹⁾

Engenheira Química, Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos (DEQ/UFPE). Doutora em Tecnologia Ambiental (CTG/UFPE) e em Microbiologia (UAM-Espanha). Pós-doutoranda em Engenharia Civil (CTG/UFPE).

Cândida Nathaly Cordeiro Souto⁽¹⁾

Química Industrial (DEQ/UFPE). Mestre em Tecnologia Ambiental (CTG/UFPE). Doutoranda em regime de co-tutela em Tecnologia Ambiental (CTG/UFPE) e Microbiologia (UAM-Espanha).

Dennys José Cavalcante Santana⁽¹⁾

Estudante de Graduação em Engenharia Química (DEQ/UFPE). Bolsista PIBITI/CNPq.

Maria de Lourdes Florêncio dos Santos⁽¹⁾

Engenheira Civil, Mestre em Hidráulica e Saneamento pela EESC/USP. Doutor em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Wageningen Agricultural University (Holanda). Professora Titular do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental (CTG/UFPE).

Mário Takayuki Kato⁽¹⁾

Engenheiro Civil, Mestre em Hidráulica e Saneamento pela EESC/USP. Doutor em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Wageningen Agricultural University (Holanda). Professor Titular do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental (CTG/UFPE).

Endereço⁽¹⁾: Rua Acadêmico Hélio Ramos, S/N – Cidade Universitária - Recife - PE - CEP: 50740-530 - Brasil - Tel: +55 (81) 3271-8228/8743 - e-mail: shyrlane.veras@gmail.com

RESUMO

O glicerol proveniente da produção de biodiesel é um importante recurso dentro das biorrefinarias. Ele pode fazer parte da plataforma do carboxilato e servir como matéria-prima para obtenção de ácidos carboxílicos de cadeia curta, e estes, podem servir de substratos, juntamente com doadores de elétrons, para a formação dos ácidos de cadeia média. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar o uso de lodo granular e floculento na fermentação do glicerol e obtenção de produtos de alongamento de cadeia usando diferentes concentrações de etanol como doador de elétrons. Além disso, também foi avaliado o efeito da presença de CO₂ (20%) inicialmente no *headspace* sobre os metabólitos formados. Para isso, foram feitos testes em frascos de 100 mL e com volume útil de 50 mL, adicionando-se 2 g SSV.L⁻¹ de inóculo, nutrientes e etanol em concentrações de 0, 10, 30 e 50% do glicerol aplicado (15 g.L⁻¹). Os resultados com a presença inicial apenas de N₂ no *headspace* mostraram que o uso de lodo granular apresentou maior potencial para promover reações de alongamento de cadeia, comprovado pela presença dos ácidos butírico, valérico e caproico, representando 15,2%, 3,8% e 4,9% do total de produtos, respectivamente. Nestas condições, o maior consumo de glicerol também foi obtido com o uso de lodo granular (91%). Nos testes sem adição de etanol, mas com presença de CO₂ inicialmente no *headspace*, apenas de 1,3-PDO e ácidos de cadeia curta, principalmente propiônico, foram produzidos com os dois inóculos. O consumo de glicerol diminuiu significativamente para 33% (com lodo granular) e 51% (com o floculento), sugerindo que grupos dominantes possivelmente foram prejudicados pela presença de CO₂ no *headspace*. Contudo, ao adicionar maiores concentrações de etanol, a produção de butírico voltou a acontecer (~15% do total em ambos os testes), sendo obtidas as maiores concentrações ao adicionar maior quantidade de etanol (7,5 g.L⁻¹). No que se refere à eficiência de consumo de glicerol nos testes em presença de CO₂, o lodo floculento apresentou maior consumo (59 e 63%) usando concentrações de etanol de 4,5 e 7,5 g.L⁻¹. Portanto, até o momento, pode-se concluir que os resultados são promissores, porém é necessário conhecer melhor a dinâmica da comunidade microbiana contida em cada inóculo frente às condições aplicadas visando melhor controle do processo.

PALAVRAS-CHAVE: Valorização do glicerol, consórcio microbiano, alongamento de cadeia, composição do *headspace*, plataforma do carboxilato.

INTRODUÇÃO

A preocupação com o meio ambiente faz com que o reaproveitamento de resíduos para obtenção de novos compostos seja bastante promissor. Além das vantagens ambientais, é possível agregar vantagens econômicas, o que torna essa prática cada vez mais atraente. Com as biorrefinarias, a possibilidade de usar biomassa proveniente dos setores agrícolas e industriais para obtenção de compostos valiosos tem se intensificado. Dentro do conceito de biorrefinaria, uma importante plataforma, conhecida como plataforma do carboxilato, vem sendo aprimorada ao longo da última década (AGLER et al., 2011; SPIRITO et al., 2014). Nela, resíduos orgânicos como os provenientes da produção de vinhos (ex. borras de vinho) e alimentos (ex. fermentado de milho, restos de alimentos) são convertidos principalmente por processos biológicos em ácidos carboxílicos, cada um com amplas aplicações (GE et al., 2015; KUCEK et al., 2016).

Como parte dessa plataforma, o processo de alongamento de cadeia para produzir ácidos carboxílicos de cadeia média está sendo aprimorado e ampliado para vários tipos de biomassa e doadores de elétrons (WU et al., 2019). Segundo estes autores e Cavalcante et al. (2017), a produção dos ácidos de cadeia média acontece em etapas: (i) primeiro a biomassa é convertida em ácidos de cadeia curta (ex. ácidos acético e propiônico), que pode acontecer pela ação tanto de micro-organismos (culturas puras ou mistas) em processos aeróbios ou anaeróbios, sendo este último mais utilizado pela simplicidade e menores custos; (ii) dependendo do tipo de biomassa, alguns processos vão exigir adição externa de doadores de elétrons (ex. etanol, lactato, metanol, propanol) para que o alongamento aconteça, enquanto outros podem apresentar em sua composição concentrações suficientes de doadores; e (iii) determinados grupos de micro-organismos vão utilizar os ácidos de cadeia curta formados e os doadores de elétrons disponíveis para, em ciclos de β -oxidação reversa, produzir compostos com cadeia maiores.

Dentro do que foi mencionado, o glicerol que é um resíduo orgânico oriundo da produção de biodiesel, pode ser inserido como matéria-prima em várias rotas, inclusive na produção desses compostos. Estima-se que são produzidos entre 10 e 100 kg de glicerol por tonelada de biodiesel (LARI et al., 2018). Com a produção anual crescente de biodiesel, tanto no cenário nacional (mais de 5 milhões de m³ em 2018) como no global, ampliar as opções de uso do glicerol é essencial para incentivar a produção e consumo de biodiesel (BIODIESELBR, 2019).

Os processos fermentativos que usam glicerol como fonte de carbono para diversos grupos de micro-organismos resultam na produção dos ácidos de cadeia curta básicos para o alongamento (SILVA et al., 2009). Doadores de elétrons também são produzidos, porém em baixas concentrações. Por isso, para o processo de alongamento usando glicerol, é necessário adicioná-los no meio reacional, conforme discutido por Veras et al. (2019a). Apesar de já existirem pesquisas com formação de produtos de alongamento a partir de resíduos orgânicos, o uso do glicerol para este fim é bastante recente, principalmente para a formação de compostos com cadeia ímpares. Os trabalhos mais recentes mostram a formação de ácido valérico (5 átomos de carbono) partindo de propiônico em presença de etanol (GANIGUÉ et al., 2019; VERAS et al., 2019a). Outro assunto relativamente novo é o uso de lodo granular para obtenção de produtos alongados. Roghair et al. (2016) foram os primeiros a testarem o uso desse tipo de inóculo com essa finalidade.

Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar o uso de lodo granular e floculento no processo de fermentação do glicerol e consecutivo alongamento de cadeia usando diferentes concentrações de etanol como doador de elétrons. Como complemento, também foi avaliado o efeito da presença de CO₂ inicialmente no *headspace* sobre os metabólitos formados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os lodos granular e floculento utilizados nos experimentos foram coletados em reatores do tipo UASB aplicados no tratamento de efluentes em cervejaria e esgoto doméstico, respectivamente. Testes iniciais foram feitos com cada inóculo (T1 com lodo granular e T2 com floculento) sem a adição de etanol a fim de verificar o tempo de consumo total de glicerol e avaliar a produção de metabólitos pela microbiota. Para isso, frascos de vidro de 100 mL foram utilizados na montagem de reatores em batelada em sistema anaeróbio. O volume útil foi 50 mL e continha glicerol puro (15 g.L⁻¹ e pureza de 99,5%), inóculo (2 g SSV.L⁻¹), macro (VERAS et al., 2019a) e micronutrientes (FLORÊNCIO et al., 1993). O pH inicial do meio foi mantido próximo a 5,5 (AGLER et al., 2012). Frascos de controle também foram montados para cada inóculo sob as mesmas condições descritas anteriormente, porém sem substrato. Posteriormente, os frascos foram lacrados com septo

de borracha butílica e lacre de alumínio e, em cada um, foi feita a purga do *headspace* com N₂. Depois, foram postos em um *shaker* sob agitação de 120 rpm e temperatura de 30 ± 2 °C.

Após a realização dos testes descritos sem adição de etanol, novos foram montados; porém, desta vez, a purga do *headspace* foi feita com uma mistura de N₂ e CO₂ (80:20), a fim de tentar favorecer determinados grupos de *Clostridium*, já que o CO₂ é essencial para muitos destes micro-organismos (ANGENENT et al., 2016; ROGHAIK et al., 2016). Dessa forma, os novos experimentos foram feitos apenas com substrato (sem etanol) e com a solução de substrato suplementada com etanol em quantidades equivalentes a 10, 30 e 50% da concentração de glicerol aplicada (15 g.L⁻¹) com os lodos granular (T1_10, T1_30 e T1_50) e floculento (T2_10, T2_30 e T2_50). Todos os testes foram feitos em duplicata, sob as mesmas condições de substrato, nutrientes, pH, temperatura e agitação; e tiveram a duração de 7 dias.

Para determinação dos metabólitos: glicerol, 1,3-propanodiol (1,3-PDO), etanol e ácidos carboxílicos, como o acético (HAc), propiônico (HPr), butírico (HBu), valérico (HVa) e caproico (HCa); volumes de 0,5 mL foram coletados diariamente e analisados em um HPLC (LC-20AT, Shimadzu, Japão) equipado com detector de índice de refração (RID-10A) e coluna Aminex HPX-87H 300 x 7,8 mm (BIORAD, EUA) a 40 °C, com fluxo de fase móvel (H₂SO₄, 5 mM) e volume de injeção iguais a 0,6 mL.min⁻¹ e 20 µL, respectivamente. A quantificação dos gases produzidos (CH₄, H₂ e CO₂) foi feita por cromatografia gasosa (GC-2014 modelo SPL 2014, Shimadzu, Japão) com detector de condutividade térmica e coluna Carboxen 1010 Plot 30 m x 0,53 mm (Supelco, Alemanha). O método aplicado consistiu em manutenção da temperatura da coluna, detector e tempo de corrida, iguais a 100 °C, 230 °C e 4 min, respectivamente; com argônio como gás de arraste.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 1a e 1b mostram a distribuição percentual total de produtos obtidos com os testes sem adição de etanol usando os lodos granular (T1) e floculento (T2), ambos com *headspace* compostos inicialmente por N₂ (100%), e depois, por uma mistura de N₂ e CO₂ (80 e 20%), respectivamente. Diferenças significativas foram verificadas entre os resultados obtidos ao incluir CO₂ no *headspace*, tanto em T1 como em T2, principalmente no que se refere aos metabólitos formados.

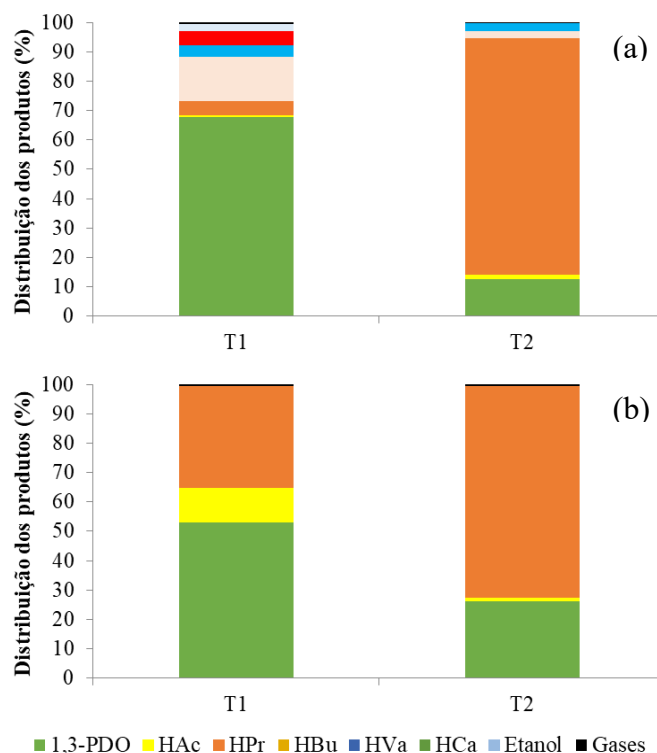


Figura 1: Distribuição percentual total de produtos obtidos com os testes sem adição de etanol usando os lodos granular (T1) e floculento (T2) como inóculos e sem adição de etanol usando *headspace* inicialmente contendo (a) apenas N₂ e (b) N₂ e CO₂ (80:20).

O principal produto formado nos testes T1, independente do *headspace* aplicado, foi o 1,3-PDO, representando aproximadamente 67 e 53% do total de produtos (Figuras 1a e 1b, respectivamente). Entretanto, sua concentração máxima (6,61 g.L⁻¹) foi obtida no 6º dia de experimento com *headspace* contendo inicialmente apenas com N₂ (Figura 1a). Enquanto isso, com o uso de lodo flocculento como inóculo, os testes T2 apresentaram maior produção de HPr com concentração máxima de 6,27 g.L⁻¹ também no 6º dia, representando 80% (Figura 1a) e 72% (Figura 1b) do total de produtos identificados.

Com relação aos ácidos formados, no teste T1, ao usar *headspace* contendo inicialmente apenas N₂ (Figura 1a), o HPr foi o principal ácido de cadeia curta identificado (concentração máxima de 0,45 g.L⁻¹), representando 4,7% do total de produtos. No entanto, dentre os ácidos intermediários identificados, o HBU apresentou maior percentual (15,2%), seguido do HVa (3,8%), com concentrações máximas de 1,24 g.L⁻¹ e 0,36 g.L⁻¹, respectivamente. Como ácido de cadeia média, o HCa formado representou 4,9% (0,43 g.L⁻¹) dos produtos totais. Ao aplicar um *headspace* contendo inicialmente N₂ e CO₂, foram produzidos apenas HPr e HAc (ácidos de cadeia curta), porém em maiores quantidades, representando 34,9% e 11,7% do total de produtos, respectivamente. Em comparação, a produção de ácidos em T2 foi bastante significativa, independente da composição inicial de *headspace* utilizada, com elevada produção de HPr. Além disso, ao utilizar apenas N₂ no *headspace*, foram observadas a presença de ácidos de cadeia intermediária, como o HBU e HVa, representando 2,7 e 2,5%, respectivamente; dos produtos totais.

Analisando as Figuras 1a e 1b, pode-se sugerir que os inóculos apresentam diferentes grupos dominantes. O lodo granular segue um comportamento normalmente descrito na literatura para processos fermentativos envolvendo o uso de glicerol como substrato. De acordo com Vivek et al. (2016), o glicerol apresenta natureza fortemente redutora e, por isso, é comum que a via reductiva seja priorizada, resultando na maior produção de 1,3-PDO; seja em pH ótimo (7,0 – 8,0) ou em pH mais ácido (5,0 – 5,5), como encontrado na literatura (MOSCOVIZ et al., 2016; VERAS et al., 2019b). Contudo, o lodo flocculento utilizado nos testes T2, provavelmente apresenta micro-organismos em que as condições mais favoráveis levam à formação de produtos da via oxidativa e, neste caso, particularmente, o HPr.

No que se refere aos ácidos alongados formados (HBU, HVa, HCa) e analisando a Figura 1a, pode-se dizer que a microbiota contida nos lodos, principalmente no granular, tem potencial para formar tanto compostos com cadeias pares (HBU, HCa) quanto ímpares (HVa). A do lodo flocculento, por sua vez, apesar de permitir elevada produção de HPr, nas condições aplicadas, não foi capaz de formar HVa em maiores quantidades. Por isso, a fim de favorecer a formação desses produtos de alongamento, foi decidido usar um *headspace* contendo CO₂, essencial para o desenvolvimento de muitas bactérias, principalmente as do gênero *Clostridium* (ROGHAIR et al., 2016), envolvidas tanto na produção de ácidos e 1,3-PDO (ex. *C. butyricum*), como em reações de alongamento de cadeia (*C. kluyveri*) (WU et al., 2019).

No entanto, diante dos resultados obtidos e apresentados na Figura 1b, é provável que outros micro-organismos capazes de promover o alongamento (ex. *Megasphaera*, *Eubacterium*) estivessem predominantemente presentes nos inóculos e que tenham sido diretamente afetados pelas trocas realizadas no *headspace*. Outra possibilidade para a ausência de produtos alongados frente à presença inicial de CO₂ é a baixa concentração de H₂. Segundo a literatura, a presença de H₂ é imprescindível para a formação dos produtos de alongamento, embora também seja importante que a pressão parcial de H₂ se mantenha baixa para favorecer o processo de alongamento (ANGENENT et al., 2016). Algumas dessas equações estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Energia livre de Gibbs padrão (ΔG°_r) de algumas reações envolvidas no alongamento de cadeia

Reação	ΔG°_r (kJ.mol ⁻¹)
$2 \text{ acetato}^- + \text{H}^+ + 2 \text{ H}_2 \rightarrow \text{butirato}^- + 2 \text{ H}_2\text{O}$	- 48,1
$\text{Acetato}^- + \text{propionato}^- + \text{H}^+ + 2 \text{ H}_2 \rightarrow \text{valerato}^- + 2 \text{ H}_2\text{O}$	- 48,1
$\text{Acetato}^- + \text{butirato}^- + \text{H}^+ + 2 \text{ H}_2 \rightarrow \text{caproato}^- + 2 \text{ H}_2\text{O}$	- 48,1
$3 \text{ acetato}^- + 2 \text{ H}^+ + 4 \text{ H}_2 \rightarrow \text{caproato}^- + 4 \text{ H}_2\text{O}$	- 177,0

Fonte: Adaptado de VERAS (2019). Nota: ΔG°_r para 25 °C, 1 molar, 1 bar e pH = 7.

Além de influenciar na formação dos metabólitos, foram observadas alterações significativas na eficiência de consumo de glicerol. Sem a adição de etanol e inicialmente com o *headspace* composto apenas com N₂, foi

observada uma maior eficiência de consumo de glicerol para o lodo granular (~91%) em comparação com o floculento (~75%) até o 7º dia. Entretanto, esses valores diminuíram consideravelmente ao inserir CO₂ inicialmente nos testes, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Eficiência de consumo de glicerol nos testes T1 (com lodo granular) e T2 (com lodo floculento) sem adição de etanol com diferentes composições iniciais para o *headspace*

Experimentos	Eficiência de consumo de glicerol (%)	
	<i>Headspace</i> contendo apenas com N ₂	<i>Headspace</i> contendo N ₂ e CO ₂ (80:20)
T1	90,6	32,9
T2	74,8	50,8

Em geral, a produção de gases foi baixa, representando menos de 1% do percentual de produtos formados (Figuras 1a e 1b). Entre os gases formados estão o H₂, CO₂ e CH₄ tanto em T1 como em T2. As concentrações obtidas nos testes usando inicialmente apenas N₂ em T1 foram 0,167 mM, 0,495 mM e 0,017 mM para o H₂, CO₂ e CH₄, respectivamente. Nos testes T2, estes valores foram 0,201 mM, 0,272 mM e 0,109 mM. Entretanto, ao purgar N₂ e CO₂ (Figura 1b), foi verificada menor concentração de H₂ e maior de CH₄ (0,451 mM em T1 e 1,65 mM em T2), indicando que parte do H₂ formado pode ter sido utilizada junto com o CO₂ disponível em maior quantidade (*headspace*) para formação de CH₄ (via hidrogenotrófica).

Os testes T1 e T2 com diferentes concentrações de etanol, detalhados a seguir, foram realizados apenas com o *headspace* contendo inicialmente N₂ e CO₂, pelos motivos justificados anteriormente. Dessa forma, nas Figuras 2 e 3 estão apresentadas as distribuições percentuais dos produtos obtidos usando diferentes concentrações de etanol para cada inóculo, com presença de CO₂ no *headspace*.

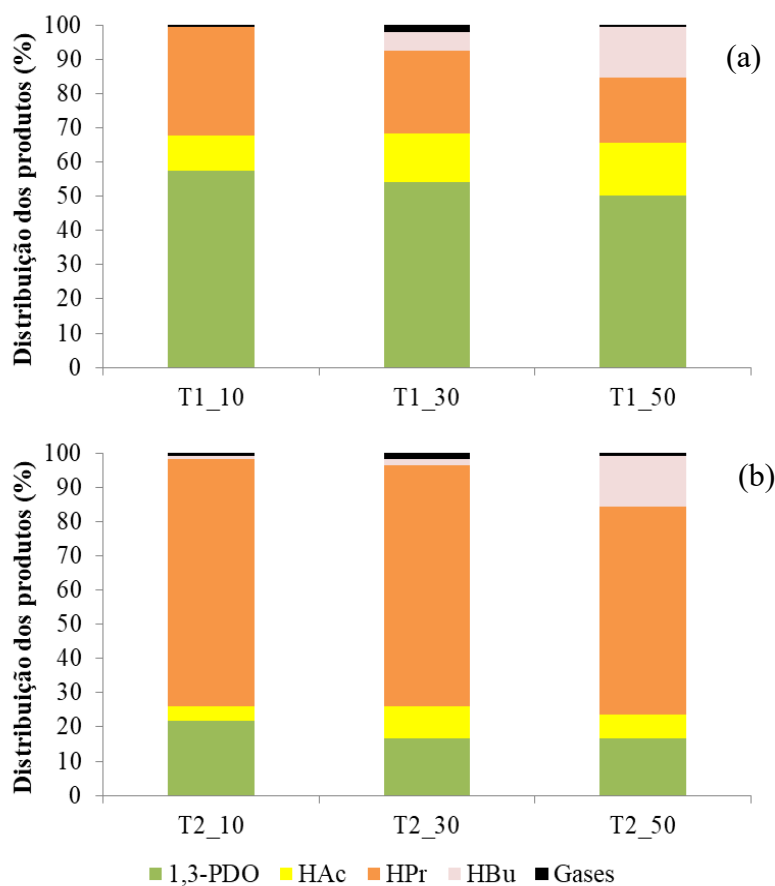


Figura 2: Distribuição % do total de produtos obtidos com experimentos usando lodos (a) granular (T1) e (b) floculento (T2) como inóculos, cada um com concentrações de etanol equivalentes a 10, 30 e 50% da concentração inicial de glicerol aplicada e *headspace* inicialmente contendo N₂ e CO₂ (80:20).

Ao adicionar diferentes concentrações de etanol, os testes T1 seguiram apresentando o 1,3-PDO como principal produto (entre 50 e 58%); enquanto que o HPr continuou sendo o principal produto obtido nos testes T2. Ao adicionar 10% da concentração de glicerol em etanol ($\sim 1,5 \text{ g.L}^{-1}$), foi verificado um comportamento semelhante (Figuras 2a e 2b) ao obtido e descrito anteriormente sem o uso de etanol tanto para o teste T1 como T2 (Figura 1b). No entanto, foi observado que apenas HBU foi produzido pelas culturas mistas contidas nos inóculos com adições de etanol equivalentes a 30 e 50% da concentração de glicerol aplicada ($4,5$ e $7,5 \text{ g.L}^{-1}$). Nestas condições, esse ácido intermediário apresentou percentuais entre 5 e 15% para T1 (T1_30 e T1_50, Figura 2a) e entre 2 e 15% para T2 (T2_30 e T2_50, Figura 2b).

Na Tabela 3 estão reunidas as eficiências de consumo de glicerol e etanol para cada teste realizado com o lodo granular e floculento. Com o lodo floculento, foram verificados maiores consumos de glicerol (63 e 59%) e etanol (78 e 91%), ambos para T2_30 ($4,5 \text{ g de etanol.L}^{-1}$) e T2_50 ($7,5 \text{ g de etanol.L}^{-1}$), respectivamente.

Tabela 3: Eficiência de consumo de glicerol e etanol nos testes T1 (com lodo granular) e T2 (com lodo floculento) usando concentrações de etanol equivalentes a 10, 30 e 50% da concentração inicial de glicerol aplicada

	Consumo de glicerol (%)	Consumo de etanol (%)
T1_10	41,9	59,6
T1_30	42,4	43,0
T1_50	48,3	47,1
T2_10	30,6	56,7
T2_30	63,1	78,0
T2_50	59,1	91,3

Diante dos resultados com o uso de etanol e presença inicial de CO_2 no *headspace*, observou-se que a eficiência de consumo de substrato aumentou em todos os testes, exceto em T2 com menor adição de etanol (T2_10, Tabela 3). E, em contrapartida, a adição de etanol também permitiu a formação de HBU, porém em nenhum teste foi verificada a produção de HVa ou HCa.

Dessa forma, seria interessante testar o efeito das concentrações de etanol, com o *headspace* contendo apenas N_2 para tentar compreender melhor a dinâmica microbiana dos inóculos. Até porque, conforme discutido anteriormente é possível que outros grupos estejam envolvidos na formação desses compostos e, por isso, o uso de CO_2 , não favoreceu determinados micro-organismos, como os pertencentes ao gênero *Clostridium*. Similarmente, conhecer melhor os grupos dominantes contidos em cada inóculo bem como as rotas energeticamente mais favoráveis que eles podem seguir, facilitaria o caminho para atingir os resultados desejados.

CONCLUSÃO

O glicerol pode ser um forte candidato para uso na plataforma do carboxilato e produção de ácidos carboxílicos de cadeia média. Os resultados com a presença apenas de N_2 no *headspace* indicaram que o uso de lodo granular apresentou maior potencial para formação desses compostos, sendo observadas a formação dos ácidos butírico, valérico e caproico; todos, representado em torno de 24% dos produtos obtidos. Além disso, também apresentou maior consumo de substrato (91%) comparado ao uso do floculento (75%). Com este inóculo também foram observadas maior produção de 1,3-PDO (50 – 68% dos produtos), independente da composição do *headspace* utilizada. Ao realizar os testes em presença de N_2 e CO_2 inicialmente no *headspace*, alterações significativas foram verificadas tanto no consumo de substrato como nos metabólitos obtidos. Nestas condições e sem adição de etanol, o consumo de substrato foi significativamente menor comparado aos testes anteriores, e desta vez, o teste com o lodo floculento apresentou maior consumo de glicerol (51%) comparado ao com o granular. Com relação aos metabólitos, os testes com os dois inóculos apresentaram apenas a produção de 1,3-PDO e ácidos de cadeia curta, principalmente propiônico; e, por isso, a presença inicial de CO_2 pode ter desfavorecido a formação dos ácidos alongados pelos micro-organismos responsáveis. No entanto, a adição de etanol pode ter contribuído para o aumento no consumo de glicerol e formação de ácido butírico ($\sim 15\%$) nos testes com os dois inóculos. Com isso, seria interessante realizar novos experimentos com a adição de etanol e sem a presença de CO_2 para comparar os resultados obtidos com os dois tipos de inóculos, inclusive com relação a custos, pois nos primeiros testes, por exemplo, o lodo granular

produziu o equivalente a 15,2% de butírico sem a adição de etanol, enquanto que nos testes em presença de CO₂, foi necessário adicionar etanol em maiores concentrações para se chegar a resultados semelhantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGLER, M.T., SPIRITO, C.M., USACK, J.G., WERNER, J.J., ANGENENT, L.T. Chain elongation with reactor microbiomes: Upgrading dilute ethanol to medium-chain carboxylates. *Energy & Environmental Science*, v. 5, p. 8189–8192, 2012.
2. 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, fev. 2011.
3. BIODIESELBR, 2019. Recorde: Brasil produziu 5,35 bilhões de litros de biodiesel em 2018. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/producao/brasil-produziu-5-35-bilhoes-de-litros-de-biodiesel-em-2018-280119> Acesso em: 11 de abril de 2019.
4. CAVALCANTE, W. A., LEITÃO, R.C., GEHRING, T.A., ANGENENT, L.T., SANTAELLA, S.T. Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: A review. *Process Biochemistry*, v.54, p. 106–119, mar. 2017.
5. FLORENCIO, L., JENIČEK, P., FIELD, J.A., LETTINGA, G. Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v. 75, p. 368–374, 1993.
6. GANIGUÉ, R., NAERT, P., CANDRY, P., DE SMEDT, J., STEVENS, C. V., RABAEY, K. Fruity flavors from waste: A novel process to upgrade crude glycerol to ethyl valerate. *Bioresource Technology*, v. 289, 121574, mai. 2019.
7. GE, S., USACK, J.G., SPIRITO, C.M., ANGENENT, L.T. Long-term n-caproic acid production from yeast-fermentation beer in an anaerobic bioreactor with continuous product extraction. *Environmental Science and Technology*, v. 49, p. 8012–8021, mai. 2015.
8. KUCEK, L.A., XU, J., NGUYEN, M., ANGENENT, L.T. Waste conversion into n-caprylate and n-caproate: Resource recovery from wine lees using anaerobic reactor microbiomes and in-line extraction. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, p. 1–14, nov. 2016.
9. LARI, G.M., PASTORE, G., HAUS, M., DING, Y., PAPADOKONSTANTAKIS, S., MONDELLI, C., PÉREZ-RAMÍREZ, J. Environmental and economical perspectives of a glycerol biorefinery. *Energy and Environmental Science*, v. 11, p. 1012–1029, fev. 2018.
10. MOSCOVIZ, R., TRABLY, E., BERNET, N. Consistent 1,3-propanediol production from glycerol in mixed culture fermentation over a wide range of pH. *Biotechnology for Biofuels*, v. 9, p. 1–11, fev. 2016.
11. ROGHAI, M., STRIK, D.P.B.T.B., STEINBUSCH, K.J.J., WEUSTHUIS, R.A., BRUINS, M.E., BUISMAN, C.J.N. Granular sludge formation and characterization in a chain elongation process. *Process Biochemistry*, v. 51, n. 10, p. 1594–1598, jun. 2016.
12. SILVA, G.P., MACK, M., CONTIERO, J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. *Biotechnology Advances*, v. 27, n.1, p. 30-39, jan-fev. 2009.
13. SPIRITO, C.M., RICHTER, H., RABAEY, K., STAMS, A.J.M., ANGENENT, L.T., 2014. Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 27, p. 115-122, jan. 2014.
14. VERAS, S.T.S. Produção de compostos com valor agregado a partir da degradação anaeróbia do glicerol. Recife, 2019. Tese de doutorado - Universidade Federal de Pernambuco, 192 p., 2019.
15. VERAS, S.T.S., CAVALCANTE, W.A., GEHRING, T.A., RIBEIRO, A.R., FERREIRA, T.J.T., KATO, M.T., LEITÃO, R.C. Anaerobic production of valeric acid from crude glycerol via chain elongation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, p. 1-12, out. 2019a.
16. VERAS, S.T.S.; ROJAS, P.; FLORENCIO, L.; KATO, M.T.; SANZ, J.L. Production of 1,3-propanediol from pure and crude glycerol using a UASB reactor with attached biomass in silicone support. *Bioresource Technology*, v. 279, p. 140–148, jan. 2019b.
17. VIVEK, N.; PANDEY, A.; BINOD, P. Biological valorization of pure and crude glycerol into 1,3-propanediol using a novel isolate *Lactobacillus brevis* N1E9.3.3. *Bioresource Technology*, v. 213, p. 222–230, fev. 2016.
18. WU, Q., BAO, X., GUO, W., WANG, B., LI, Y., LUO, H., WANG, H., REN, N. Medium chain carboxylic acids production from waste biomass: Current advances and perspectives. *Biotechnology Advances*, v. 37, p. 599–615, set-out. 2019.