

II-441 – PRODUÇÃO DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS DE ALTO VALOR AGREGADO A PARTIR DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA

Erlon Lopes Pereira

Engenheiro Agrícola pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Mestre em Biotecnologia Industrial/Microbiologia Aplicada pela Universidade de São Paulo (USP) – Escola de Engenharia de Lorena (EEL). Doutor em Engenharia Agrícola/Recursos Hídricos e Ambientais pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Naassom Wagner Sales Morais

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutorando em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Milena Maciel Holanda Coelho

Graduanda em Biotecnologia pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Renato Carrhá Leitão

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). PhD em Environmental Sciences pela Wageningen University, Holanda. Pesquisador da EMBRAPA.

André Bezerra dos Santos ⁽¹⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). PhD em Environmental Sciences pela Wageningen University, Holanda. Professor Associado do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

Endereço⁽¹⁾: Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Campus do Pici, Bloco 713, Pici – Fortaleza - CE - CEP: 60455-900 - Brasil - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

A produção anaeróbica de ácidos carboxílicos (AC) em uma rota tecnológica alternativa aos tradicionais processos de metanização, vem sendo defendida como uma maneira eficaz de gerar combustíveis e produtos químicos sustentáveis a partir de biomassa tanto sólida quanto líquida. Nesse sentido, o uso de substratos de baixo custo, como as águas residuárias agroindustriais (ARA), para prospecção de AC é uma estratégia atraente para mitigar os impactos ambientais ocasionados pela inadequada disposição desses resíduos e para gerar insumos químicos de alto valor agregado por meio de um processo sustentável. Contudo, ainda são incipientes as investigações de tratamento de várias ARA, entre as quais a água residuária de suinocultura (ARS), no âmbito da plataforma carboxílica. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a produção de ácidos carboxílicos em condições anaeróbicas acidogênicas a partir da ARS, um resíduo orgânico comumente gerado pela atividade agroindustrial brasileira e mundial. Os ensaios foram realizados em 4 reatores batelada com 250 mL de volume reacional, com lodo de cervejaria como inóculo e utilizando clorofórmio 0,05% (v/v) para inibição da metanogênese. A relação alimento microrganismo foi de $0,64 \pm 0,01 \text{ gDQO gSSV}^{-1}$ e o pH inicial médio de 7,0. O rendimento de produção de ácidos carboxílicos obtido foi de 0,33 g ácidos por g DQO, correspondendo a 0,40 g DQO ácidos por grama DQO. Portanto, 40% da matéria orgânica presente na ARS pode ser recuperada na forma de ácidos carboxílicos. O ácido acético e o ácido butírico foram os principais ácidos carboxílicos formados durante a fermentação acidogênica da ARS, apresentando seletividade de 75% e 13%, respectivamente. Verificou-se a produção de ácido capríico mesmo sem a inserção de doadores de elétrons, algumas vezes utilizados para viabilizar o processo de alongamento de cadeia carboxílica.

PALAVRAS-CHAVE: Recuperação de Subprodutos, Plataforma Carboxílica, Ácidos Carboxílicos, Águas Residuárias Agroindustriais (ARA), Água Residuária de Suinocultura (ARS).

INTRODUÇÃO

Segundo Mata-Avarez *et al.* (2014), as biomassas ricas em carboidratos podem ser valorizadas a partir do processo de digestão anaeróbica da matéria orgânica, o qual pode gerar produtos de grande interesse econômico e ambiental, como gases (metano e hidrogênio), solventes (etanol, acetona e hexanol) e ácidos carboxílicos (acético, propiônico, butírico e valérico). Nesse sentido, o uso de resíduos agroindustriais como matéria-prima

para prospecção desses produtos de valor agregado é uma estratégia atraente para mitigar os impactos ambientais ocasionados pela inadequada disposição desses resíduos (RAMIÓ-PUJOL *et al.*, 2015).

A partir dessa perspectiva, a digestão anaeróbia convencional pode ser adaptada para a prospecção desses produtos, dentre os quais se destacam os ácidos carboxílicos de cadeia curta (ACCC) que possuem de 2 a 5 carbonos. Esses compostos são *building block chemicals* amplamente aplicados na indústria na produção de vernizes, tintas, perfumes, tensoativos, auxiliares têxteis, medicamentos e produtos alimentícios (LEE *et al.*, 2014), tornando-os economicamente atrativos. Além disso, estima-se que o valor agregado dos ACCC seja de 50-130 dólares/tonelada, valor maior do que o metano, que é de 0,72 dólares/m³ (ZHOU *et al.*, 2018).

Apesar de os ACCC apresentarem elevado valor agregado, os ácidos carboxílicos de cadeia média (ACCM) são mais atrativos economicamente e podem ser aplicados como solventes, precursores para produção de biodiesel e em outros processos bioquímicos, como na produção de bioplásticos. Além da maior aplicabilidade industrial, os ACCM, devido ao aumento da hidrofobicidade, apresentam maior facilidade de serem extraídos do meio reacional em relação à extração dos ACCC, o que pode reduzir custos com processamento *downstream* desses bioprodutos (GROOTSCHOLTEN *et al.*, 2013).

Dentre os resíduos agroindustriais que podem ser aplicados para a produção biotecnológica de AC, destacam-se aqueles gerados nas indústrias de laticínios (PERNA *et al.*, 2013), no beneficiamento de frutos, na cadeia produtiva da cana-de-açúcar e da mandioca (AMORIM *et al.*, 2017), na produção de biodiesel (LI *et al.*, 2013) e na criação e abate de animais para a indústria alimentícia.

Nesse sentido, a água residuária de suinocultura (ARS) pode apresentar potencial para a produção de ACCC e ACCM devido ser rica em carboidratos e apresentar elevadas cargas orgânicas e de nutrientes (Neves *et al.*, 2015). Contudo, ainda são incipientes as investigações de tratamento de várias águas residuárias agroindustriais (ARA), entre as quais as ARS, no âmbito da plataforma carboxílica.

OBJETIVO

Avaliar a produção de ácidos carboxílicos em condições anaeróbias acidogênicas a partir da ARS, um resíduo orgânico comumente gerado pela atividade agroindustrial brasileira e mundial.

METODOLOGIA

A água residuária de suinocultura (ARS), obtida em uma suinocultura do município de Chorozinho, Ceará, Brasil, foi utilizada como substrato em quatro reatores batelada com volume reacional de 250 mL (50 mL de *headspace*). Os reatores foram inoculados com lodo de um Reator Anaeróbio de Manta de Lodo e Fluxo Ascendente (UASB) que operava no tratamento de efluentes de cervejaria localizada na região metropolitana de Fortaleza, Ceará, Brasil. A razão alimento/microrganismo (A/M) foi de $0,64 \pm 0,01$ g DQO·g SSV⁻¹.

O pH inicial foi ajustado para 7,0 com NaOH 1 N e, posteriormente, foi adicionado bicarbonato de sódio (NaHCO₃) como tampão. Para inibir a atividade metanogênica, foi adicionado clorofórmio 0,05% (v/v) (CHIDTHAISONG; CONRAD, 2000; HAO *et al.*, 2013). Os biorreatores foram selados com rolhas de borracha butílica e purgados com nitrogênio (N₂), durante 1 minuto, a fim de manter a atmosfera anaeróbia. Em seguida, foram incubados em incubadora (MA-420, Marconi LTDA, Brasil) sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura de 35 °C durante 28 dias com coletas nos dias 0, 2, 4, 7, 14, 21 e 28.

O monitoramento da bioconversão do substrato foi realizado por análise físico-química de DQO nas frações total, solúvel e particulada (APHA, 2012). A produção dos ácidos carboxílicos (ácido acético, propiônico, butírico, isovalérico, valérico e capróico) foi mensurada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high performance liquid chromatography*), utilizando cromatógrafo HPLC LC-20A (Prominence, Shimadzu Corporation, Japão), equipado com coluna Aminex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm) (Bio-Rad, EUA), a 65° C, com H₂SO₄ 5 mM em água deionizada como eluente (fluxo isocrático de 0,6 mL·min⁻¹) e detector de índice de refração (RID-10A, Shimadzu Corporation, Japão). Para as análises cromatográficas e para as análises de DQO solúvel, as amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro com poro de 0,45 µm (EMD Millipore, EUA).

Ao final do ensaio (28º dia), foi realizada a verificação da inibição da atividade metanogênica e a análise da composição do biogás (CH_4 , H_2 , H_2S e CO_2) a partir da análise da fração gasosa em um cromatógrafo gasoso com detecção por descarga por ionização de barreira dielétrica (GC-BID, *gas chromatography-barrier ionization discharge*) (GC BID-2010 Plus, Shimadzu Corporation, Japão). Posteriormente à análise de cromatografia gasosa, o volume acumulado de biogás no headspace foi medido a partir do deslocamento de solução salina (NaCl 25 g.L^{-1}) acidificada a pH 2,0 com H_2SO_4 P.A. em uma garrafa de Mariotte.

Visando conhecer os fluxos de massa e energia no sistema, foi realizado o balanço de massa do sistema em termos de DQO. As concentrações de ácidos carboxílicos obtidas por análise de cromatografia líquida foram multiplicadas pelo volume reacional presente no biorreator no dia da coleta para se obter a massa de ácidos. As massas de ácidos foram convertidas em concentração de matéria orgânica (DQO ácidos) por meio do equivalente de DQO ($\text{gDQO g ácidos}^{-1}$) expresso na Tabela 1.

Tabela 1: Equivalente grama de DQO dos ácidos carboxílicos analisados.

Biomolécula	Fórmula molecular	DQO equivalente ($\text{g DQO g ácidos}^{-1}$)
Ácido Acético	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	1,07
Ácido Propiônico	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$	1,51
Ácido Butírico	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	1,82
Ácido Isovalérico	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$	2,04
Ácido Valérico	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$	2,04
Ácido Capróico	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	2,21

As equações utilizadas para calcular o balanço de massa e as parcelas da matéria orgânica são apresentadas na Tabela 2 e as variáveis das equações são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 2: Equações utilizadas no cálculo do balanço de massa.

Equação	Equação do Balanço de Massa
1	$\text{DQO}_{\text{Disponível}} = \text{DQO}_{\text{Total}} - \text{DQO}_{\text{Ácidos}(t_0)}$
2	$\text{DQO}_{\text{Convertida}} = \text{DQO}_{\text{Disponível}} - \text{DQO}_{\text{Biodegradável}(t_f)}$
3	$\text{DQO}_{\text{Biodegradável}} = \text{DQO}_{\text{Solúvel}} - \text{DQO}_{\text{Ácidos}}$
4	$\text{DQO}_{\text{Ácidos}} = \text{DQO}_{\text{Ácidos}(t_f)} - \text{DQO}_{\text{Ácidos}(t_0)}$
5	$\text{DQO}_{\text{SSV}} = \text{DQO}_{\text{Disponível}} - \text{DQO}_{\text{Ácidos}} - \text{DQO}_{\text{Biodegradável}(t_f)} - \text{DQO}_{\text{Biogás}}$
6	$\% \text{DQO}_{\text{Convertida}} = \frac{\text{DQO}_{\text{Convertida}}}{\text{DQO}_{\text{Disponível}}} \times 100$
7	$\% \text{DQO}_{\text{Ácidos}} = \frac{\text{DQO}_{\text{Ácidos}}}{\text{DQO}_{\text{Disponível}}} \times 100$
8	$\% \text{DQO}_{\text{SSV}} = \frac{\text{DQO}_{\text{SSV}}}{\text{DQO}_{\text{Disponível}}} \times 100$
9	$\% \text{DQO}_{\text{Biodegradável}} = \frac{\text{DQO}_{\text{Biodegradável}(t_f)}}{\text{DQO}_{\text{Disponível}}} \times 100$
10	$\% \text{DQO}_{\text{Biogás}} = \frac{\text{DQO}_{\text{Biogás}}}{\text{DQO}_{\text{Disponível}}} \times 100$

Tabela 3: Descrição das variáveis das equações utilizadas no balanço de massa.

Variável	Equação	Unidade	Descrição
DQO _{total}	(1)	mg DQO	Massa de DQO total inserida no reator batelada.
DQO _{disponível} (DQO _D)	(1) (2) (5)–(10)	mg DQO	Fração da massa da DQO total disponível para ser bioconvertida a AC ou direcionada para crescimento celular e formação de biogás. Corresponde a fração de DQO total aplicada no início do experimento que não está na forma de AC.
DQO _{ácidos} (t ₀)	(1) (4)	mg DQO	Fração da massa da DQO solúvel em forma de AC no início da batelada.
DQO _{convertida} (DQO _C)	(2) (6)	mg DQO	Massa de DQO direcionada para a produção de AC, crescimento celular e formação de biogás.
DQO _{biodegradável} (t _f)	(2) (5) (9)	mg DQO	Fração da massa de DQO solúvel não referente à AC ao final do período de incubação.
DQO _{ácidos} (DQO _{AC})	(3) (4) (5) (7)	mg DQO	Massa de AC formada durante o período de incubação.
DQO _{ácidos} (t _f)	(4)	mg DQO	Massa de AC no final do período de incubação.
DQO _{Ossv}	(5) (8)	mg DQO	Massa de DQO direcionada para crescimento celular.
DQO _{biogás}	(5) (10)	mg DQO	Massa de DQO removida por produção de metano.
%DQO _{convertida}	(6)	%	Porcentagem da DQO disponível direcionada a produção de AC, crescimento celular e formação de biogás.
%DQO _{ácidos}	(7)	%	Porcentagem da DQO disponível direcionada a produção de AC.
%DQO _{Ossv}	(8)	%	Porcentagem da DQO disponível direcionada o crescimento celular.
%DQO _{biodegradável}	(9)	%	Porcentagem da DQO disponível ainda passível de ser bioconvertida a AC ao final do período de incubação.
%DQO _{biogás}	(10)	%	Porcentagem da DQO disponível direcionada a formação de biogás.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os perfis de concentração da matéria orgânica nas frações total, particulada e solúvel estão apresentados na Figura 1.

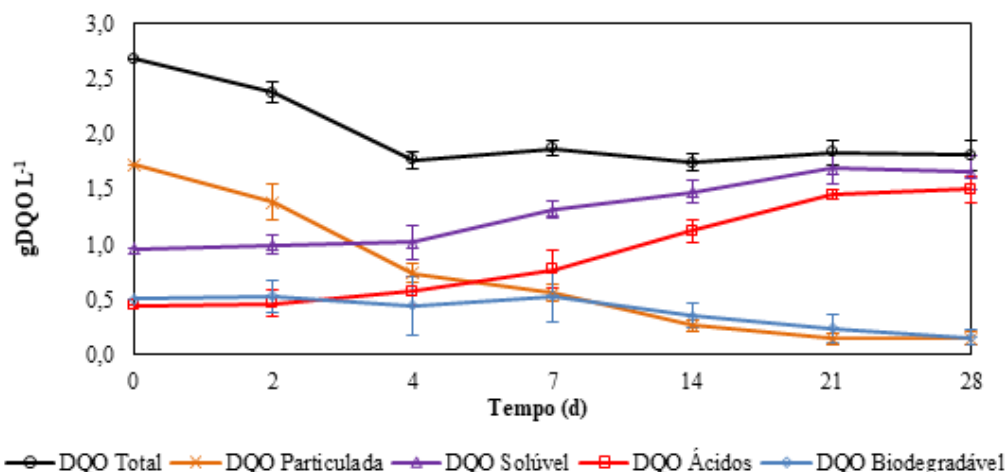


Figura 1: Consumo da matéria orgânica e bioprodução de ACCC e ACCM (DQO de ácidos carboxílicos).

Como pode ser observado na Figura 1, até o quarto dia ocorreu diminuição na fração particulada da matéria orgânica, contribuindo para uma redução da DQO total. Embora a DQO de ácidos carboxílicos tenha aumentado progressivamente, nota-se que a DQO biodegradável (fração da massa de DQO solúvel não referente à AC) teve pouca variação nos primeiros sete dias (Figura 1). Isso ocorreu devido ao processo de hidrólise que disponibilizava continuamente carboidratos na fração solúvel (DQO solúvel e disponível para bioconversão), e a partir do sétimo dia com a diminuição da taxa de hidrólise, houve predominância da bioconversão, sendo obtidos valores crescentes de DQO de ácidos carboxílicos.

Utilizando as equações expressas nas Tabelas 1 a 3, realizou-se o balanço de massa global em termos de DQO ao final do experimento. Com isso, foi observado que $40 \pm 5\%$ da matéria orgânica disponível foi convertida a AC e $6 \pm 3\%$ permaneceu disponível para bioconversão.

Devido à elevada concentração de matéria orgânica particulada na ARS *in natura* utilizada neste estudo ($DQO_p/DQO_T = 0,80$), acredita-se que parte da matéria orgânica ($54 \pm 6\%$) sedimentou e contribuiu para a formação de biomassa. Neves *et al.* (2015) descreveram que sedimentação de sólidos presentes em águas residuárias agroindustriais em geral, principalmente as compostas de desejos ou trato intestinal animal, pode formar uma biomassa ativa.

Não foi possível quantificar as concentrações formadas de metano e hidrogênio por meio da análise de cromatografia gasosa, devido a suas concentrações estarem abaixo da curva de detecção do método utilizado. O biogás formado era composto de 93 % de gás carbônico (CO_2) e 7% gás sulfídrico (H_2S). Como o volume de H_2S produzido foi desprezível não se considerou no balanço de massa a remoção de matéria orgânica por meio da redução de sulfato. Por esse motivo, considerou-se nula a remoção de matéria orgânica por meio de produção de biogás ($DQO_{biogás} = 0$).

Os ACCC e ACCM formados e suas proporções quanto ao total produzido, bem como o rendimento dos compostos por g de DQO disponível afluente, podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4: Direcionamento da matéria orgânica para a formação de ácidos carboxílicos produzidos na fermentação acidogênica da ARS.

Ácido Carboxílico	HAc	HBu	HIVa	HVa	HCa
Proporção (%)	62 ± 1	18 ± 2	$9 \pm 0,3$	$3 \pm 0,2$	8 ± 1
Rendimento (mg DQO ácido/g DQO _D)	341 ± 25	99 ± 5	51 ± 3	15 ± 2	43 ± 5

HAc: ácido acético. HPr: ácido propiônico. HBu: ácido butírico. HIVa: ácido isovalérico. HVa: ácido valérico. HCa: ácido capríco.

Não se pode afirmar que houve produção de ácido propiônico (C3) nos ensaios de fermentação acidogênica com ARS. Por isso, não se considerou direcionamento de DQO para a formação de C3. Logo, não foi possível calcular o rendimento de produção de C3 em termos de massa de DQO_D. Alguns fatores podem ter contribuído para isso, dentre eles a bioconversão de ácido propiônico a ácido acético, ou mesmo a transformação a ácido valérico por meio de reações de alongamento de cadeia carboxílica. Entretanto, o residual de matéria orgânica em forma de C3 ao final da batelada foi considerado para os cálculos de balanço de massa global.

Os dados da Tabela 4 mostram que o ácido acético (C2) e o ácido butírico (C4) representaram 80% dos ácidos bioproduzidos, fornecendo base para pesquisas futuras sobre o processo de alongamento de cadeia carboxílica (PACC), visto que são os principais ácidos convertidos a ácido capríco e demais ACCM no processo de β -oxidação reversa (SPIRITO *et al.*, 2014). Nota-se que, mesmo sem a adição de doadores de elétrons, como o etanol (STEINBUSCH *et al.*, 2011), para a indução do PACC, foi direcionado 8% da matéria orgânica para a formação de ácido capríco (C6), representando um rendimento de 43 ± 5 mg DQOC6/g DQO_D.

A produtividade máxima de ácido acético (101 ± 46 mg L⁻¹ d⁻¹) se deu no segundo dia e de ácido butírico (16 ± 9 mg L⁻¹ d⁻¹) no quarto dia. Esse resultado sugere que a adição de doadores de elétrons ao segundo dia poderia favorecer o PACC e aumentar a produtividade de ACCM.

Os valores de produtividade máxima, de seletividade e de rendimento de AC são apresentados na Tabela 5. As porcentagens de seletividade também podem ser visualizadas pela Figura 2. O rendimento total de produção de ácidos carboxílicos foi de 0,33 g ácidos por g DQO, correspondendo a 0,40 g DQO ácidos por g DQO_D.

Tabela 5: Seletividade, rendimento e produtividade máxima de ácidos carboxílicos nos ensaios com ARS.

-	HAc	HBu	HIVa	HVa	HCa
¹ Seletividade (%)	75 ± 1,1	13 ± 1,2	6 ± 0,2	2 ± 0,1	4 ± 0,3
² Rendimento (mg ácidos g DQO ⁻¹).	320,3 ± 23,8	54,6 ± 2,8	25,0 ± 1,6	7,5 ± 0,9	19,7 ± 2,1
³ Produtividade Máxima	100,9 ± 45,7	15,6 ± 8,7	9,8 ± 3,0	0,9 ± 0,2	2,0 ± 0,1

1. Porcentagem de ácido no total de ácidos produzidos (%).
2. Rendimento de produção de ácidos em relação à DQO_D (mg ácidos gDQO_D⁻¹).
3. Produtividade máxima de ácidos (mg ácidos L⁻¹ d⁻¹).

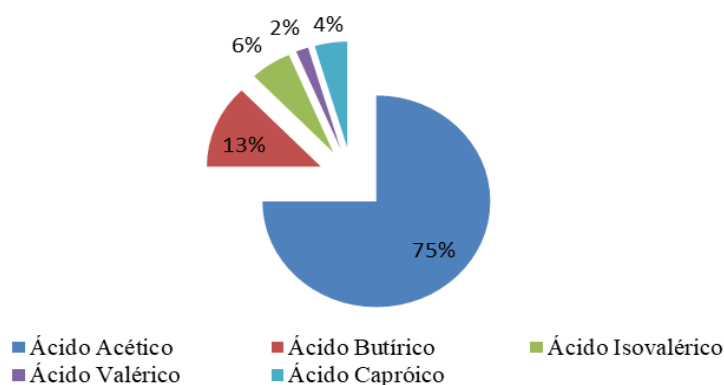


Figura 2: Seletividade dos ácidos carboxílicos formados pela fermentação acidogênica da ARS.

As concentrações de AC formados pela fermentação acidogênica da ARS e os resultados obtidos por Dams *et al.* (2018) que realizaram estudos de produção biológica de AC com glicerol residual em reatores batelada são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6: Concentração média dos ácidos carboxílicos obtidos pela fermentação anaeróbia de diferentes substratos em reatores batelada.

Autor	Este estudo	Dams <i>et al.</i> (2018)
Substrato Ácido Carboxílico	¹ ARS	² Glicerol Residual
HAc (g L ⁻¹)	0,79	0,30
HPr (g L ⁻¹)	-	0,52
Hbu (g L ⁻¹)	0,14	0,61
Hiva (g L ⁻¹)	0,06	³ NI
Hva (g L ⁻¹)	0,02	NI
HCa (g L ⁻¹)	0,05	⁴ ND

1. Fermentação acidogênica da água residuária de suinocultura (ARS).
2. Fermentação acidogênica do glicerol residual (GR) em reatores batelada com volume útil de 100 mL operando com pH 6,5. Foi utilizado 10 g de SSV de cultura mista (lodo granular de cervejaria) como inóculo;
3. NI: não informado;
4. ND: não detectado.

As diferentes composições da ARS e do glicerol residual e as diferentes condições operacionais dos experimentos, como volume reacional, razão alimento microrganismo, pH, tipo de reator batelada, tipo de inóculo, impedem que haja uma comparação direta entre os valores de concentração de ácidos formados e na determinação de qual substrato tem maior potencial de produzir ácidos carboxílicos. Entretanto, os resultados permitem afirmar que a fermentação acidogênica da ARS apresentou a formação de ácido isovalérico, valérico e capróico, os quais não foram formados pela fermentação do glicerol residual.

Devido à produção de ACCM (ácido capróico) mesmo sem a adoção de estratégias para potencializar o PACC entende-se que a ARS é um substrato com potencial para a produção de ACCM. Neste contexto, a bioaumentação (inserção de uma espécie ou grupo específico de microrganismo a uma cultura mista, visando o aumento da densidade populacional deste microrganismo) e a adição de doadores de elétrons para estimular o PACC, podem ser estratégias viáveis para aumentar a produtividade de ACCM, em processo anaeróbio acidogênico, a partir da ARS (HUNG *et al.*, 2011; WEIMER *et al.*, 2015; DAMS *et al.*, 2018; Chi *et al.*, 2018).

Em relação à composição do biogás, o gás carbônico foi produzido em maiores concentrações (93 % v/v), seguido pelo gás sulfídrico (7% v/v). Os outros gases, como o metano e o hidrogênio, não apresentaram concentrações significativas, visto que se situaram abaixo do limite de detecção do método cromatográfico, comprovando que o tratamento químico com clorofórmio foi eficiente na inibição dos microrganismos metanogênicos. Sabe-se que o clorofórmio atua inibindo a coenzima M redutase necessária ao metabolismo das arqueias metanogênicas, propiciando boa eficiência de inativação metabólica dependendo da diversidade desses microrganismos no inóculo do reator (NING *et al.*, 2012). No entanto, verificou-se a formação de sulfeto de hidrogênio no biogás, fato que indica que o clorofórmio não foi eficiente na inativação das bactérias redutoras de sulfato (BRS).

Por esse motivo, outras estratégias de inibição química podem ser avaliadas com finalidade de evitar o consumo de carbono orgânico por BRS, como a adição de 2-bromoetanossulfônico (2-BES), que atua na inibição da rota da acetil-CoA (SIRIWONGRUNGSON *et al.*, 2013) e a inserção conjunta de clorofórmio e molibdato, os quais atuam diretamente na inativação enzimática (ALPERIN; REEBURGH, 1985). No entanto, o uso de agentes químicos nessa inibição onera a produção de ACCC e ACCM (VASUDEVAN *et al.*, 2014), o que torna necessário estudar outras estratégias de inibição, como redução de pH (GE *et al.*, 2015), restrição nutricional (AGLER *et al.*, 2008) e choques térmicos aplicados à biomassa ativa (DING *et al.*, 2010).

Conforme Vasudevan *et al.* (2014), a produção de ácido capróico (C6) em cultura mista requer a adição de uma fonte de carbono inorgânico, principalmente quando o etanol e ácido acético forem utilizados como substrato. Isso ocorre porque a *Clostridium kluyveri*, um dos microrganismos mais importantes para a produção biológica de ácido capróico (KANNEGIESSER *et al.*, 2015), apresenta exigência nutricional por uma fonte de carbono inorgânico (CO₂) para a síntese de proteínas (TOMLINSON; BAKER, 1954). Estudos indicam que, durante a produção de ácido capróico, cerca de 30% do carbono assimilado à biomassa celular são derivados de CO₂, enquanto 70% são derivados de carbono orgânico (JUNGERMANN *et al.*, 1968).

Contudo, em reatores caprogênicos alimentados com substratos complexos, é dispensável a suplementação de carbono inorgânico devido à produção interna de CO₂ na fermentação primária da matéria orgânica. Apesar do presente estudo não ter avaliado a produção de ácido capróico pela indução do PACC com a adição de doadores de elétrons, percebe-se que a exigência nutricional da *C. kluyveri* por carbono inorgânico foi atendida, como evidenciado pela composição gasosa do biogás gerado no experimento. Esse fator pode ter favorecido o desenvolvimento desses microrganismos e a produção de C6, o qual, ao final do experimento, representava 4% dos ácidos formados, com produtividade máxima de $2 \pm 0,1 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Entretanto, não se pode afirmar sobre a atividade de *Clostridium spp.* nos biorreatores, visto que não foram realizadas análises moleculares das comunidades microbianas presentes, muito embora sejam microrganismos extremamente frequentes em lodos anaeróbios, assim como no trato intestinal de suínos. Assim, pode-se inferir que os mesmos estavam presentes nos sistemas avaliados.

CONCLUSÕES

O rendimento de produção de ácidos carboxílicos obtido foi de 0,33 g ácidos por g DQO_D, correspondendo a 0,40 g DQO ácidos por grama DQO_D. Portanto, 40% da matéria orgânica presente na ARS pode ser recuperada na forma de ácidos carboxílicos.

O ácido acético e o ácido butírico foram os principais ácidos carboxílicos formados durante a fermentação acidogênica da ARS, apresentando seletividade de 75% e 13%, respectivamente. O potencial de produção de ACCM é evidenciado devido à formação de ácido capróico, mesmo em baixa concentração. Nenhum doador de elétrons externo foi adicionado, indicando que o hidrogênio, formado nas vias metabólicas de degradação de carboidratos ou bioconversão de ácidos, possivelmente foi o principal fator para a produção de ácido

valérico e ácido capróico a partir do alongamento de cadeia carboxílica do ácido acético, propiônico e butírico. Neste contexto, a bioaugmentação e a adição de doadores de elétrons para estimular o PACC podem ser estratégias viáveis para aumentar a produtividade de ACCM, em processo anaeróbio acidogênico, a partir da ARS.

Assim, a utilização de resíduos agroindustriais de baixo custo em processos anaeróbios acidogênicos torna-se uma possibilidade para a prospecção de produtos de relevância industrial e para mitigar passivos ambientais gerados pelas atividades agroindustriais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto – INCT ETEs Sustentáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGLER, M. T *et al.* Thermophilic anaerobic digestion to increase the net energy balance of corn grain ethanol. *Environmental science & technology*, v. 42, n. 17, p. 6723–6729, 2008.
2. AI, B. L *et al.* Butyric acid fermentation from rice straw with undefined mixed culture: enrichment and selection of cellulolytic butyrate-producing microbial community. *Int. J. Agric. Biol.* 15 (6), 1075–1082, 2013.
3. ALPERIN, M. J.; REEBURGH, W. S. Inhibition experiments on anaerobic methane oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 50, n. 4, p. 940–945, 1985.
4. AMORIM, N. C. S. *et al.* The effect of methanogenesis inhibition, inoculum and substrate concentration on hydrogen and carboxylic acids production from cassava wastewater. *Biodegradation*, v.29, p. 41-38, 2017.
5. ANGENENT, L. T. *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.
6. APHA. *Standard Methods: for the examination of water and wastewater*. 21. ed. Washington, D.C.: APHA - American Public Health Association, 2005.
7. CHI, X., *et al.* Bioaugmentaion with *Clostridium tyrobutyricum* to improve butyric acid production through direct rice straw bioconversion. *Bioresource Technology*. 562-568, 2018.
8. CHIDTHAISONG, A.; CONRAD, R. Specificity of chloroform, 2-bromoethanesulfonate and fluoroacetate to inhibit methanogenesis and other anaerobic processes in anoxic rice field soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 32, n. 7, p. 977-988, 2000.
9. DAMS, R. I.; *et al.* Production of medium-chain Carboxylic acids by Anaerobic fermentation of glycerol using a bioaugmented open culture. *Biomass and Bioenergy*. 1-7, 2018.
10. DING, H. B.; TAN, G. Y. A.; WANG, J. Y. Caproate formation in mixed-culture fermentative hydrogen production. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 24, p. 9550–9559, 2010.
11. 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*, v. 49, n. 13, p. 8012–8021, 2015.
12. GROOTSCHOLTEN, T. I. M. *et al.* High rate heptanoate production from propionate and ethanol using chain elongation. *Bioresource technology*, v. 136, p. 715-718, 2013.
13. HAO, L. *et al.* Response of anaerobes to methyl fluoride, 2-bromoethanesulfonate and hydrogen during acetate degradation. *Journal of Environmental Sciences*, v. 25, n. 5, p. 857-864, 2013.
14. HUNG, C.-H.; CHANG, Y.-T.; CHANG, Y.-J. Roles of microorganisms other than *Clostridium* and *Enterobacter* in anaerobic fermentative biohydrogen production systems--a review. *Bioresource technology*, v. 102, n. 18, p. 8437–44, set. 2011.
15. JUNGERMANN, K. *et al.* The synthesis of one-carbon units from CO₂ in *Clostridium kluyveri*. *European journal of biochemistry / FEBS*, v. 3, n. 3, p. 351–359, 1968.
16. KANNENGIESSER, J. *et al.* Extraction of medium chain fatty acids from organic municipal waste and subsequent production of bio-based fuels. *Waste Management*, 2015.
17. 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.

18. LI, Z. *et al.* A novel and environment-friendly bioprocess of 1,3-propanediol fermentation integrated with aqueous two-phase extraction by ethanol / sodium carbonate system. *Biochemical Engineering Journal*, v. 80, p. 68–75, 2013.
19. MATA-ALVAREZ, J. *et al.* A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 36, p. 412–427, 2014.
20. NEVES *et al.* Partida de reator anaeróbio compartimentado em série com um reator anaeróbio de manta de lodo, utilizando parâmetros de sedimentabilidade para formação da biomassa. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 20, p. 623-634, 2015.
21. NEVES, C. S. *et al.* Partida de reator anaeróbio compartimentado em série com um reator anaeróbio de manta de lodo, utilizando parâmetros de sedimentabilidade para formação da biomassa. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 20, n. 4, p. 623-634, 2015.
22. NING, Y.Y. *et al.* Evaluation of the stability of hydrogen production and microbial diversity by anaerobic sludge with chloroform treatment. *Renewable Energy*, v. 38, n. 1, p. 253–257, fev. 2012
23. PERNA, V. *et al.* Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, n. 1, p. 54–62, 2013.
24. RAMÍO-PUJOL, S. *et al.* How can alcohol production be improved in carboxydutrophic clostridia? *Process Biochemistry*, v. 50, p. 1047–1055, 2015.
25. SIRIWONGRUNGSON, V.; ZENG, R. J.; ANGELIDAKI, I. Homoacetogenesis as the alternative pathway for H₂ sink during thermophilic anaerobic degradation of butyrate under suppressed methanogenesis. *Water research*, v. 41, n. 18, p. 4204–10, out. 2007.
26. SPIRITO, C. M. *et al.* Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 27, p. 115-122, 2014.
27. 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, 2011.
28. TOMLINSON, N.; BARKER, H. A. Carbon dioxide and acetate utilization by *Clostridium kluyveri*. I. Influence of nutritional conditions on utilization patterns. *Journal of Biological Chemistry*, v. 209, p. 585–595, 1954.
29. VASUDEVAN, D.; RICHTER, H.; ANGENENT, L. T. Upgrading dilute ethanol from syngas fermentation to n-caproate with reactor microbiomes. *Bioresource technology*, v. 151, p. 378–82. 2014.
30. WEIMER, P. J.; NERDAHL, M.; BRANDL, D. J. Production of medium-chain volatile fatty acids by mixed ruminal microorganisms is enhanced by ethanol in co-culture with *Clostridium kluyveri*. *Bioresource Technology*, v. 175, p. 97–101, 2015.
31. ZHOU, M. *et al.* Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology*, 2017.