

Fatores que influenciam a produção de ácidos carboxílicos a partir de resíduos agroindustriais

Factors that influence the production of carboxylic acids from agroindustrial wastes

Amanda de Sousa e Silva¹ , Naassom Wagner Sales Morais¹ ,
Erlon Lopes Pereira¹ , André Bezerra dos Santos^{1*} 

RESUMO

Os ácidos carboxílicos (ACs) são componentes químicos de base produzidos principalmente a partir da plataforma petroquímica. Entretanto, em razão de impactos ambientais, risco de escassez e elevados preços do petróleo, a produção biológica de AC por meio da digestão anaeróbia de recursos renováveis de baixo custo, como resíduos orgânicos das atividades agroindustriais, vem recebendo atenção crescente. Nesse contexto, o presente artigo objetiva discutir o processo de digestão anaeróbia aliada ao alongamento de cadeia carboxílica, a fim de orientar tomadas de decisão, como, por exemplo, escolha do substrato e definição das condições ambientais e dos parâmetros operacionais. Em geral, as condições que apresentam melhor viabilidade para produção de ácidos carboxílicos de cadeia média (ACCM) são: pH próximo a 6,0; temperatura mesofílica, já que oferece maior estabilidade operacional e os rendimentos obtidos em condições termofílicas não se mostram muito superiores; pressão parcial de hidrogênio (PPH) próxima a 10^5 aliada à limitação de CO_2 ; tempo de residência celular (θ_c) inferior a 5 dias; e tempo de detenção hidráulica (TDH) baixo para sistemas contínuos. Uma das configurações mais promissoras é o uso de sistemas de dois estágios utilizando baixo pH como inibidor da metanogênese e extração de ACs em linha, para evitar a inibição devido à toxicidade dos produtos.

Palavras-chave: digestão anaeróbia; plataforma carboxílica; resíduos agroindustriais.

ABSTRACT

Carboxylic acids (CA) are basic chemical components produced mainly through the petrochemical platform. However, due to environmental impacts, risk of scarcity and high petroleum prices, organic production of CA from the anaerobic digestion of low-cost renewable resources, such as organic wastes from agro-industrial activities, has been receiving increasing attention. In this context, the present paper aims to discuss the process of anaerobic digestion allied to the carboxylic chain elongation process, in order to guide decision making such as substrate choice, definition of environmental conditions, and operational parameters. In general, the conditions that present the best viability for MCCA production are: pH close to 6.0; mesophilic temperature since it offers greater operational stability and the yields obtained under thermophilic conditions are not much higher; hydrogen partial pressure (HPP) close to 10^5 combined with CO_2 limitation; solids retention time (θ_c) < 5 days and low hydraulic retention time (HRT) for continuous systems. One of the most promising configurations is the use of two-stage systems using low pH as a methanogenesis inhibitor and inline CA extraction to avoid inhibition due to product toxicity.

Keywords: anaerobic digestion; carboxylic platform; agroindustrial wastes.

INTRODUÇÃO

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos (ACs) amplamente aplicados na indústria na produção de vernizes, tintas, perfumes, desinfetantes, tensoativos, auxiliares têxteis, medicamentos e produtos alimentícios (DU; LIU; CHEN, 2015). Ácidos graxos de cadeia mais longa têm aplicação industrial mais ampla e sua produção é geralmente mais difícil, quando comparada à verificada para os ácidos de cadeia curta. Por isso,

o valor agregado do AC tende a aumentar de acordo com o aumento do número de carbonos.

Cerca de 90% da demanda de AC no mercado é fornecida por métodos de produção baseados em derivados do petróleo. Entretanto, por causa de impactos ambientais, risco de escassez e elevados preços do petróleo, a produção biológica de AC da digestão anaeróbia de recursos renováveis de baixo custo, como resíduos orgânicos das atividades

¹Universidade Federal do Ceará – Fortaleza (CE), Brasil.

*Autor correspondente: andre23@ufc.br

Recebido: 06/06/2019 – Aceito: 08/01/2020 – Reg. ABES: 20190174

agroindustriais, vem recebendo atenção crescente (DU; LIU; CHEN, 2015; ATASOY *et al.*, 2018).

Em geral, no processo de digestão anaeróbia, os ácidos carboxílicos de cadeia curta (ACCC), que têm até cinco átomos de carbono, são formados naturalmente na etapa de acidogênese e, em seguida, são convertidos em metano como produto final. Entretanto, tem se mostrado mais vantajoso inibir a produção de metano e focar na produção de ácidos carboxílicos de cadeia média (ACCM), compreendendo-se os ACs com 6 a 12 carbonos. Para isso, é necessária a presença de material orgânico mais reduzido que forneça elétrons para a bioconversão de ACCC em ACCM por meio do Processo Biológico de Alongamento de Cadeia Carboxílica (PACC), por exemplo, butirato (C4 — aceptor de elétrons) e etanol (C₂H₅OH — doador de elétrons), para formação de caproato (GROOTSCHOLTEN *et al.*, 2013b).

No Brasil, por exemplo, a digestão anaeróbia é bastante utilizada devido ao clima tropical, sendo promissor investir em recuperação de produtos como metano e ACs. No ano de 2015, já havia 127 usinas de biogás em operação no Brasil, com produção total em torno de 1,6 milhão de Nm³ de biogás dia⁻¹, ou 3.835 GWh ano⁻¹ em termos de energia correspondente. Os substratos mais utilizados foram resíduos agrícolas e industriais, com percentuais de 47 e 34%, respectivamente (IEA BIOENERGY, 2017). Em relação a biofábricas de ACs, até onde se conhece, ainda não existe uma planta no Brasil.

Os resíduos agroindustriais líquidos apresentam-se como potenciais substratos para produção de ACs, pois já existem muitas estações de tratamento de esgoto (ETEs) anaeróbias em operação no Brasil que podem

ser convertidas em biofábricas para produção de ACs. De acordo com levantamento realizado por Chernicharo *et al.* (2018), em um universo de 1.667 ETEs, os reatores anaeróbios do tipo UASB estão presentes em aproximadamente 40% dos fluxogramas dos sistemas inventariados.

Nesse contexto, o presente artigo objetiva discutir o processo de digestão anaeróbia aliada ao alongamento de cadeia carboxílica, visando a produção de ACs a partir de resíduos orgânicos agroindustriais. Serão analisados parâmetros e configurações de processo, a fim de orientar tomadas de decisão como escolha do substrato (doador e aceptor de elétrons) e definir as condições ambientais (pH e temperatura), os parâmetros operacionais (carga orgânica volumétrica (COV), o tempo de detenção hidráulica (TDH) e a razão substrato (S)/microorganismo (X)).

PROCESSO DE ACIDOGÊNESE E ALONGAMENTO DE CADEIA CARBOXÍLICA

A digestão anaeróbia tradicional é dividida em quatro etapas (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese), nas quais o substrato complexo é transformado em metano. Pode-se observar, na Figura 1, que quando o foco é produção de compostos intermediários, como os ACs, as etapas posteriores à acidogênese devem ser inibidas (GROOTSCHOLTEN *et al.*, 2013b).

Nesse processo, a hidrólise geralmente é a etapa mais lenta da digestão anaeróbia e, por isso, é considerada limitante na degradação de resíduos orgânicos, em que os polímeros complexos, como lipídeos, proteínas e carboidratos, são transformados em compostos orgânicos

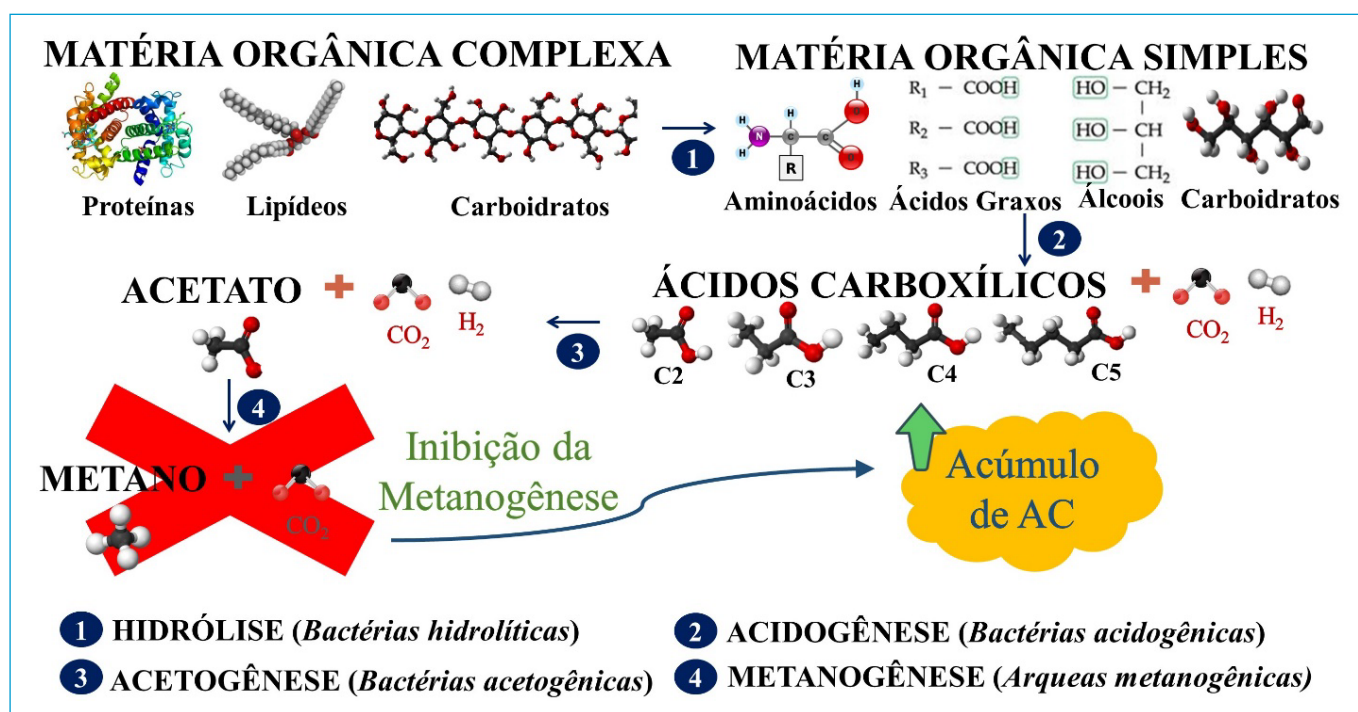


Figura 1 - Digestão anaeróbia tradicional e modificada.

solúveis menores, como ácidos graxos, aminoácidos e glicose. Por isso, é necessário melhorar a taxa de hidrólise para aumentar a disponibilidade de matéria orgânica na fração solúvel, facilitando sua posterior bioconversão a AC (PHAM VAN *et al.*, 2018).

Dessa forma, são estratégias para acelerar o processo de hidrólise a otimização de fatores operacionais (que serão discutidos a seguir) e a aplicação de pré-tratamento aos resíduos orgânicos antes da fermentação. Os métodos adotados para o pré-tratamento são: químicos (ácidos e alcalinos), físicos (térmicos, micro-ondas e ultrassom) e biológicos (enzimas) (FDEZ.-GÜELFO *et al.*, 2011).

A segunda etapa, apresentada na Figura 1 (acidogênese), é responsável pela formação dos ACs e, por isso, é uma etapa muito importante que precisa ser mais bem entendida. A fermentação acidogênica ocorre a partir de vias metabólicas coexistentes em processos anaeróbios, que determinam os produtos formados pelo direcionamento do ácido pirúvico, o qual pode ser bioconvertido a uma ampla gama de produtos, tais como acetato, propionato, butirato, etanol, propanol, butanol, H_2 e CO_2 . O direcionamento da via metabólica está relacionado com os parâmetros operacionais adotados na fermentação acidogênica, como tipo de inóculo e substrato, pH, temperatura e TDH (DE GROOF *et al.*, 2019).

Inóculos de origem anaeróbia com inibição de microrganismos metanogênicos, pH próximo de 7,0 e temperatura acima de 30°C são fatores que geralmente aceleram a cinética da reação de acidogênese, resultando na mais rápida produção de acetato, ácido que se forma em maiores quantidades durante o processo de digestão anaeróbia (ZHOU *et al.*, 2018).

Além dos fatores mais comuns, como pH e temperatura, a redução de equivalentes redutores pode favorecer a via metabólica do tipo butirato, em que o nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) é consumido para reduzir acetoacetil-CoA a 3-hidroxi-butiril-CoA e crotonil-CoA a butiril-CoA (DWIDAR *et al.*, 2012). He *et al.* (2012) relataram que a produção de butirato aumentava com o aumento do acetato no sistema, devido ao fato de que a alta concentração de ácido acético interfere na geração de acetato (inibição por retroalimentação) e também leva a um grande excedente de $NADH_2$.

Quando almeja-se obter produtos de maior valor agregado, além das vias metabólicas acidogênicas discutidas acima, é preciso entender o processo de formação de ACCM, que ocorre por meio do processo biológico de alongamento de cadeia carboxílica (PACC), bem como conhecer a microbiologia envolvida no processo e os métodos de inibição da metanogênese (DE GROOF *et al.*, 2019).

No que diz respeito ao PACC, este é um processo redox no qual os ACCC, principais produtos da fermentação primária (acidogênese), são convertidos em ACCM por consórcios microbianos por meio da reação de β -oxidação reversa. Doadores de elétrons (compostos reduzidos em energia) são necessários para reduzir equivalentes redutores

e acetyl-CoA, a fim de que essa via metabólica aconteça (COMA *et al.*, 2016). Esses compostos podem ser formados no próprio processo ou provenientes de fonte externa (CAVALCANTE *et al.*, 2017). O PACC pode ser observado, em linhas gerais, na Figura 2.

A rota de β -oxidação reversa é um processo cíclico que adiciona uma molécula de acetyl-CoA a um carboxilato e promove o alongamento de cadeia por meio da adição de dois carbonos à ACCC de cadeia par. Nesse processo, ácido acético (C2) é convertido em ácido butírico (C4), deste em ácido caproico (C6), que pode ainda se alongar para ácido caprílico (C8) (ANGENENT *et al.*, 2016). As cadeias de carbono ímpar também podem ser produzidas quando os níveis celulares de propionil-CoA são altos devido a sua incorporação no lugar de acetyl-CoA na etapa inicial da síntese de ácidos graxos. Neste caso, o propionato (C3) será alongado para valerato (C5) e, posteriormente, para heptanoato (C7) (COMA *et al.*, 2016).

Os primeiros estudos sobre o processo biológico de alongamento de cadeia carboxílica a partir de ACCC foram detalhados por Barker e Taha (1942). Uma cultura pura de *Clostridium kluyveri* foi usada para produzir ácido n-butírico e n-caproico, usando meio sintético com ácido acético (C2) e etanol (C_2H_5OH) (CAVALCANTE *et al.*, 2017). Até hoje, o microrganismo mais estudado para produção de ácido caproico é o *Clostridium kluyveri*, apesar de outros microrganismos, como *Megasphaera elsdenii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Eubacterium pyruvativorans*, *Eubacterium limosum*, *Eubacterium alactolyticus*, *Eubacterium bifforme*, *Peptococcus niger* e *Rhodospirillum rubrum*, também serem capazes de sintetizar ácido caproico por alongamento de cadeia. Muitas dessas espécies estão presentes em culturas mistas, como inóculos de diferentes sistemas anaeróbios, trabalhando de forma sinérgica com microrganismos fermentativos (GROOTSCHOLTEN *et al.*, 2014).

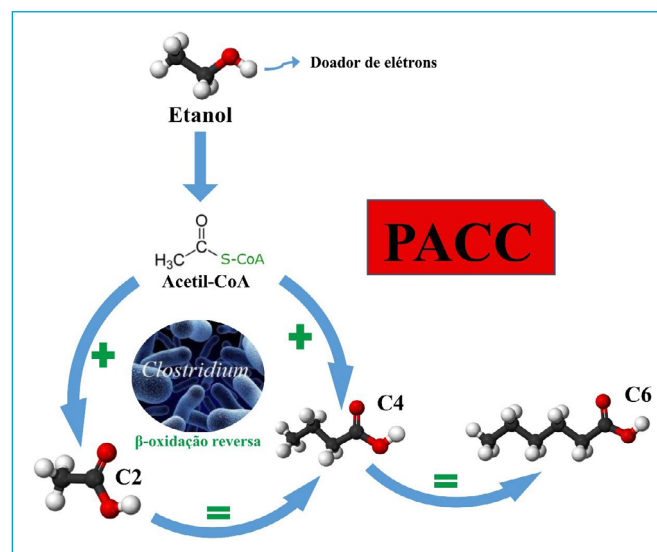


Figura 2 - Processo de alongamento biológico de cadeia carboxílica (PACC).

A produção anaeróbia de ACCM, como o ácido caproico, em culturas mistas pode ser prejudicada, caso haja intensa competição biológica pelo substrato. Arqueias metanogênicas acetoclásticas (AMAs) afetam a disponibilidade de ácido acético no meio, o principal receptor de elétrons para o PACC. As arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (AMHs) consomem hidrogênio quando não são inibidas e quando a pressão parcial de hidrogênio (PPH) se mantém baixa. Assim, quando a PPH se mantém elevada e na ausência de etanol, o hidrogênio pode ser doador de elétrons para produção de ácido caproico (AGLER *et al.*, 2012).

Outro processo competitivo a ser avaliado é a sulfetogênese. As bactérias redutoras de sulfato (BRS) concorrem com as espécies metanogênicas pelos substratos ácido acético e hidrogênio, e com bactérias acetogênicas por ACCC e álcoois. O consumo de ácido acético e a oxidação completa da matéria orgânica pelas BRS ocorrem quando a relação da massa DQO/SO_4^{2-} é menor do que 0,67; se tal relação for maior do que 0,67, ocorrerá oxidação parcial da matéria orgânica pelas BRS (OMIL *et al.*, 1998).

Em geral, os processos tradicionais utilizam culturas puras de microrganismos, nas quais não há competição biológica e a produção de ACCM apresenta bom rendimento e elevada seletividade. Entretanto, estudos mais recentes apontam que culturas mistas ou abertas são mais vantajosas devido ao uso de substratos complexos e brutos, como efluentes agroindustriais. Ou seja, a matéria-prima não precisa ser esterilizada para evitar a contaminação microbiana da cultura pura; maior produção de metabólitos; elevado crescimento bacteriano diversificado; facilidade de controle e interações sinérgicas entre microrganismos (CAVALCANTE *et al.*, 2017).

Tais vantagens estão diretamente ligadas a ganhos econômicos. Por exemplo, ao se utilizar substratos complexos, como restos de alimentos, tem-se economia de capital financeiro na obtenção da matéria-prima, além de ganho ambiental ao reduzir a disposição de resíduos no meio ambiente. Além disso, a não necessidade de esterilização de insumos, por exemplo, por meio de autoclavagem, reduz os custos de investimento do processo e os custos operacionais (BASTIDAS-OYANEDEL; SCHMIDT, 2018).

Por outro lado, ao usar culturas abertas anaeróbias para a produção de AC pode haver competição biológica pelo substrato orgânico, o que reduz a eficiência do processo, caso não sejam adotadas medidas para evitá-la (CAVALCANTE *et al.*, 2017).

O comprometimento da produção de ácido caproico pela atividade metanogênica pode ser solucionado adicionando-se agentes químicos como o 2-bromoetanosulfônico (2-BES) e/ou clorofórmio, pois ambos inibem a rota da acetil-CoA (HAO *et al.*, 2013, WANG *et al.*, 2013). Sabe-se também que o clorofórmio atua inibindo a coenzima M redutase, necessária ao metabolismo das arqueias, propiciando boa eficiência de inativação metabólica dependendo da diversidade desses microrganismos no inóculo do reator (NING *et al.*, 2012). Além disso, clorofórmio pode inibir também a atividade anaeróbia das BRS e a adição de

molibdato torna esse processo mais eficiente, pois atua diretamente na inativação enzimática (HAO *et al.*, 2013).

Entretanto, esses tipos de inibição química oneram o processo de produção de ácido caproico (VASUDEVAN; RICHTER; ANGENENT, 2014). Por isso, faz-se necessário estudar outras alternativas para evitar a competição biológica e otimizar a produção de ACCM, como reduzir o pH e/ou o TDH, parâmetros que serão discutidos nos tópicos a seguir, além de outras estratégias de pré-tratamento reportadas na literatura, como, por exemplo, tratamento térmico e adição de ácidos ou bases fortes, já que microrganismos do gênero *Clostridium* são formadores de esporos e normalmente sobrevivem aos referidos tratamentos, diferentemente dos metanogênicos e BRS.

INFLUÊNCIA DO PAR DOADOR/ACCEPTOR DE ELÉTRONS NO PROCESSO BIOLÓGICO DE ALONGAMENTO DE CADEIA CARBOXÍLICA

Uma das estratégias para potencializar o PACC é a adição de doadores de elétrons, como etanol, ácido láctico, metanol, propanol, peptídeos, galactitol e carboidratos (COMA *et al.*, 2016). O etanol é considerado o substrato reduzido mais eficiente para produção de ACCM em um sistema típico de alongamento de cadeia (LIU *et al.*, 2017). Cerca de 80% dos estudos que visam à produção de C6 utilizam o etanol para favorecer o processo (MOSCOVIZ *et al.*, 2018).

Normalmente, o etanol adicionado ao processo é obtido a partir de fermentação de açúcar ou de redução de acetato e hidrogênio. Entretanto, essa adição externa de etanol pode acarretar impactos ambientais e aumento de custos do processo fermentativo. Então, uma alternativa pode ser utilizar matérias-primas que tenham etanol em sua composição ou que possam ser fermentadas para produzi-lo *in situ*, como fermentados de amido de milho e subprodutos da cana-de-açúcar provenientes da indústria de etanol (ROGHAIR *et al.*, 2018).

Com base na estequiometria do PACC a partir do etanol, é importante manter uma razão molar maior que 2 EtOH: 1 C₂, pois, em uma razão menor, o ácido acético tende a reagir com todo o etanol disponível para formar ácido n-butírico; enquanto em uma razão maior, após o consumo de ácido acético para formar ácido n-butírico, o excedente de etanol promove o alongamento da cadeia do ácido butírico ao ácido caproico (CAVALCANTE *et al.*, 2017). De acordo com Yin *et al.* (2017), vários estudos relatam o efeito contraditório da concentração de substrato na produção de caproato e no crescimento microbiano, assim, para alcançar uma alta produção de C6, é necessário superar a inibição do substrato e fornecer uma relação acetato/etanol adequada.

O hidrogênio (H₂) também pode ser utilizado como doador de elétrons e em condições padrões de temperatura e pressão (CPTP) é termodinamicamente mais favorável para formação de ácido caproico

do que o etanol. Isso ocorre devido à maior afinidade de difusão de H_2 pela membrana citoplasmática (SEEDORF *et al.*, 2008). No entanto, o H_2 não promove produtividade elevada de ácido caproico, pois, nesse processo, há baixa produção de coeficientes redutores, que são importantes para o fluxo de elétrons do PACC. Então, esse processo metabólico geralmente ocorre quando há concentrações baixas de etanol e elevadas de ACCC (ZHANG *et al.*, 2013).

Tanto o etanol como hidrogênio são combustíveis, mas a razão de usá-los para converter acetato em ACCM é aumentar a quantidade total de energia a ser recuperada da biomassa, visto que o valor energético ou calorífico de 1 mol de ácido caproico (3.452 kJ) é claramente maior do que o valor calorífico de dois mols de etanol (2.638 kJ) necessários para produzir o ácido caproico (STEINBUSCH *et al.*, 2011).

Outro doador de elétrons bastante utilizado é o lactato e sua conversão a C6 é similar à rota de β -oxidação reversa que ocorre quando o doador é o etanol. Os microrganismos já identificados como agentes desse processo são *Megasphaera elsdenii*, *Clostridium IV* e *Ruminococcaceae CPB6* (TAO *et al.*, 2017). Primeiramente, o lactato é convertido em piruvato, que, por sua vez, é convertido em acetil-CoA para entrar na rota de oxidação reversa, a fim de produzir butirato e caproato. Pode haver também a formação de ACCC de numeração ímpar, como propionato e valerato, que são derivados da competitiva rota do acrilato que converte lactato em propionato. Para evitar essa competição, é necessário manter a concentração residual de lactato baixa (KUCEK; NGUYEN; ANGENENT, 2016).

Substratos como soro de leite, soro de queijo, resíduos alimentares, silagem de grama e silagem de milho podem se configurar como boas fontes para produção de lactato a partir de processos fermentativos com culturas puras ou mistas. Esses compostos ricos em açúcares simples, como a lactose e a frutose, são facilmente fermentados para produzir ácido láctico (DE GROOF *et al.*, 2019). Portanto, além do alongamento da cadeia, uma via de bioconversão adicional dentro do microbioma seria necessária para produzir o doador de elétrons *in situ* a partir de fluxos de resíduos orgânicos, o que seria extremamente vantajoso para reduzir os custos operacionais por não demandar um doador de elétrons externo (XU *et al.*, 2018). Zhu *et al.* (2015) demonstraram em seu estudo que o lactato foi mais consumido na produção de C6 do que o etanol utilizando um microbioma misto (constituído principalmente pelas bactérias dos gêneros *Clostridium* e *Lactobacillus*, sendo 79% de *Clostridium cluster IV*) para degradar efluente de fermentação de substratos sólidos mistos, incluindo trigo, sorgo e milho.

Em relação aos aceptores de elétrons (compostos mais oxidados), vários compostos foram utilizados para a produção de ACCM com culturas bacterianas puras, incluindo monocarboxilatos (acetato, propionato e butirato) e dicarboxilatos (succinato e malato) (ANGENENT *et al.*, 2016). Segundo Coma *et al.* (2016), isobutirato e ACs com mais de quatro carbonos são dificilmente alongados. A maior taxa de crescimento

da *C. kluyveri* foi obtida com etanol e acetato, indicando que a rota de β -oxidação reversa pode ter preferência por carboxilatos e doadores de elétrons com cadeia carbônica mais curta.

Dessa forma, percebe-se que o etanol e o ácido láctico se mostram como doadores de elétrons mais adequados para a produção de ACCM, já o propanol ainda é uma opção duvidável. Em relação ao acceptor, o composto que recebe maior destaque é o acetato. Portanto, substratos que tenham etanol e/ou ácido láctico e acetato em abundância são matérias-primas atrativas para a produção biológica de ACCM.

INFLUÊNCIA DO pH E DA TEMPERATURA

O pH é um dos fatores que controlam a produção de AC durante a fermentação acidogênica, influenciando:

- o equilíbrio de dissociação e associação entre ACs e carboxilatos, o que determina o impacto da toxicidade do produto, pois, em pH ácido, uma porcentagem maior de ACs está presente em sua forma não dissociada, forma mais tóxica do ácido;
- as distribuições de CO_2 e carbonato, o que afeta sua disponibilidade para certos organismos, como o *C. kluyveri*, que requer a incorporação de CO_2 em sua biomassa, e a capacidade de tamponamento do sistema;
- a termodinâmica do processo, sendo o alongamento da cadeia menos favorável termodinamicamente sob condições alcalinas (DE GROOF *et al.*, 2019).

Sabe-se que o rendimento máximo da produção de ácido caproico acontece com pH em torno de 7,0. No entanto, essa condição favorece a competição com os microrganismos metanogênicos acetoclásticos em uma cultura aberta, pois a metanogênese ocorre dentro de um intervalo de pH de 6,0 a 8,3. Já as bactérias acidogênicas podem tolerar um pH mais baixo (CAVALCANTE *et al.*, 2017). Um intervalo ótimo de pH 5,5–7,4 foi relatado para *C. kluyveri*. No entanto, por causa da toxicidade de caproato indissociável, é difícil encontrar uma taxa de crescimento significativa sob condições muito ácidas (REDDY; ELMEKAWY; PANT, 2018).

Portanto, uma faixa de pH entre 5,0 e 6,0 parece ser adequada para a produção de ácido n-caproico porque inibe a maior parte da atividade metanogênica acetoclástica, porém beneficia a formação de ACs não dissociados (forma mais tóxica). Uma redução de pH de 7,0 para 5,5, resulta em taxas de crescimento cerca de 40% menores em culturas puras de *C. kluyveri*, enquanto em pH muito baixo os microrganismos metanogênicos acetoclásticos ficam fora da competição (WEIMER; STEVENSON, 2012). Então, para aproveitar melhor a influência do pH, o sistema pode ser dividido em dois estágios, sendo o primeiro acidogênico e o segundo caprogênico, como será mais bem discutido mais adiante.

O pH pode afetar também o tipo de AC produzido a partir da fermentação acidogênica, particularmente os ácidos C2 a C4. O pH ótimo para a produção de um AC específico é altamente dependente do tipo de resíduo usado (WANG *et al.*, 2014). Segundo Jiang *et al.* (2013), utilizando resíduo alimentar como substrato da digestão anaeróbia, para pH 5,0, o acetato foi o principal produto, seguido por butirato, propionato e valerato; já para pH 6,0 e 7,0, o butirato foi o principal produto, seguido por acetato, propionato e valerato. Lim *et al.* (2008) também utilizaram resíduo alimentar como substrato e encontraram o succinato como produto principal da acidogênese para pH 5,0; para pH 6,0, houve também a presença de caproato.

A temperatura é outro fator operacional importante para melhorar a produção de AC, pois afeta o crescimento de microrganismos, a atividade enzimática e a taxa de hidrólise (ZHOU *et al.*, 2018). Segundo Zhang, Chen e Zhou (2009) e Hao e Wang (2015), condições termofílicas aumentam a taxa de hidrólise de resíduos orgânicos e promovem maior produção de AC em relação a condições mesofílicas. Entretanto, até o momento, a temperatura mesofílica (30–45°C) apresenta melhor custo-benefício para a produção de AC, já que os rendimentos de AC se mostram próximos aos verificados em sistemas termofílicos, são normalmente mais estáveis e apresentam custo de operação inferior (GRUHN; FRIGON; GUIOT, 2016). Além disso, a temperatura ótima para bactérias produtoras de caproato, como *C. kluyveri*, *E. pyruvativorans* e *M. elsdenii*, foi encontrada em torno de 39°C e culturas mistas apresentaram as maiores taxas de produção de caproato em temperatura de 30°C (REDDY; ELMEKAWY; PANT, 2018).

Além do efeito na produtividade de AC, alguns estudos indicam que a temperatura também influencia a composição de ACs formados. Jiang *et al.* (2013), avaliando a fermentação acidogênica de resíduos orgânicos, relataram que o butirato era o principal produto a 55°C, enquanto acetato e propionato eram os principais produtos a 35°C. Garcia-Aguirre *et al.* (2017) também observaram que mudar a temperatura para a faixa termofílica, mantendo condições ácidas, resulta em maior produção de ácido butírico.

PRESSÃO PARCIAL DE CO₂ E H₂

Outra ferramenta que também pode ser usada para otimizar uma fermentação seletiva é o controle adequado das pressões parciais de CO₂ e H₂. Isso inclui a limitação da disponibilidade de CO₂ para minimizar a competição por H₂ com os microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos e PPH suficiente para inibir a oxidação de ACCC. Em situações com excesso de produção de CO₂, sua remoção é uma alternativa para evitar a competição microbiana e, conseqüentemente, uma diminuição na PPH (CAVALCANTE *et al.*, 2017). Essa remoção pode ser feita de acordo com a patente de Angenent e Agler (2017), pressurizando o *headspace* por meio de uma válvula de alívio de pressão e

reciclado o gás por intermédio de uma solução de lavagem de KOH para retirar o CO₂.

Visto que as taxas de alongamento da cadeia para n-caproato precisam ser rápidas em sistemas com tempos de residência curtos, pode ser imperativo manter pressões parciais de hidrogênio abaixo de 10⁻³ atm, embora a PPH deva ser alta o suficiente para evitar a oxidação anaeróbia de etanol e ACCM (> 10⁻⁶ atm.), sendo a PPH ideal em torno de 10⁻⁵ atm. (ANGENENT *et al.*, 2016; GE *et al.*, 2015).

Uma alta carga orgânica de CO₂ deve ser usada para estimular a oxidação de substratos como o etanol. Entretanto, quando a carga orgânica de CO₂ é muito alta, pode haver prejuízo no PACC porque tal carga é inversamente relacionada à PPH (ROGHAIR *et al.*, 2018). Isso pôde ser corroborado por Grootcholten *et al.* (2014) em um sistema de dois estágios (reator batelada anaeróbio seguido de UASB) em que, ao aumentarem a carga orgânica de CO₂ de 2,4 para 4,8 LCO₂ L⁻¹ d⁻¹, foi verificado acúmulo de acetato em vez de alongamento da cadeia.

PARÂMETROS OPERACIONAIS

Um dos principais parâmetros operacionais em sistemas de digestão anaeróbia é a COV. Quando se utilizam substratos sintéticos, há relação positiva entre a quantidade de ACCM formada e a carga orgânica. Logo, a adoção de elevadas cargas orgânicas tem se mostrado uma estratégia na produção de ACCM. Entretanto, para substratos complexos, embora o mesmo mecanismo seja esperado, a relação entre a produção de ACCM e a carga orgânica é menos direta. Isso ocorre porque, diferentemente do meio sintético, na matéria-prima complexa a carga orgânica não indica necessariamente a presença de precursores para o PACC ou conteúdo biodegradável (DE GROOF *et al.*, 2019).

A produtividade de AC aumenta à medida que a COV aumenta, enquanto o rendimento diminui. Além disso, a COV influencia também a composição dos ACs, nos quais o valerato e o acetato aumentam com o incremento da COV, enquanto o propionato e butirato diminuem (JIANG *et al.*, 2013).

A carga orgânica está relacionada com a razão substrato/microrganismo (S/X), ou seja, a quantidade de matéria-prima introduzida (g DQO) em relação à quantidade de biomassa microbiana presente no sistema (g SSV). A literatura apresenta alguns estudos sobre a influência da razão S/X, como Vergine *et al.* (2015), que testaram relações S/X de 1,6, 4,0 e 6,4 g DQO g⁻¹ SSV para degradar águas residuárias sintéticas de refrigerantes usando cultura microbiana mista (inóculo de lodo anaeróbio) e constataram que uma razão S/X igual ou superior a 4,0 g DQO g⁻¹ SSV evitava o consumo de AC, aumentando, portanto, sua concentração. Apesar da importância desse parâmetro, não foi encontrado outro estudo que avaliasse sua influência. Além disso, dentre os trabalhos apresentados neste artigo, apenas as pesquisas de

Jiang *et al.* (2013) e Wang *et al.* (2014) forneceram dados que possibilitaram calcular a razão S/X utilizada no experimento.

Outros parâmetros fundamentais para a manutenção do processo anaeróbio desejado, capazes também de influenciar a microbiota presente nos reatores, são o tempo de residência celular (θ_c) e o TDH.

Para θ_c da ordem de 10 dias, a atividade das AMAs deve ser inibida para evitar que esses microrganismos utilizem o acetato para a produção de metano, diminuindo a eficiência do processo de acúmulo de AC. Quando o θ_c é menor que cinco dias, as bactérias que alongam as cadeias podem ter muita vantagem na competição com os microrganismos metanogênicos acetoclásticos. Isso decorre da taxa de crescimento da bactéria *C. kluyveri* em condições ideais ser de $\pm 0,1 \text{ h}^{-1}$, enquanto para os metanogênicos é de $0,02 \text{ h}^{-1}$, ou seja, o crescimento da *C. kluyveri* é cerca de cinco vezes mais rápido (ANGENENT *et al.*, 2016).

Em relação ao TDH, quando é utilizada matéria-prima prontamente biodegradável, como acetato e etanol, são empregados tempos menores que dois dias. Para possibilitar o uso de TDH mais baixos (4–18h), são utilizados reatores UASB, a fim de manter os tempos de residência celular suficientemente longos para evitar a lavagem da biomassa do sistema (ANGENENT *et al.*, 2016). Assim, percebe-se que utilizar valores baixos de TDH em reator UASB destinado à produção de ácido caproico é uma alternativa viável à inibição das AMAs.

Em ensaios de fermentação acidogênica de resíduos vegetais, Bolaji e Dionisi (2017) usaram 10, 20 e 30 dias como TDH e obtiveram que o aumento no TDH resultou em melhor redução de sólidos voláteis e que ácido caproico foi formado 20 dias após o início do experimento, embora os principais produtos fossem butirato e acetato. Isso indica que o TDH pode influenciar não só o rendimento, mas também a composição dos ACs formados. Lim *et al.* (2008) investigaram a fermentação de resíduos orgânicos e obtiveram que o aumento do TDH de 4 para 8 dias favoreceu a produção de AC, no entanto, nenhum aumento significativo foi observado quando o TDH subiu de 8 para 12 dias.

Roghair *et al.* (2016) realizaram um estudo sobre a formação de lodo granular em um processo de alongamento da cadeia e obtiveram uma produção de $10,8 \text{ g C}_6 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. O reator utilizado por eles tinha um decantador *in situ*, o que ajudou a reter o lodo no biorreator, resultando em θ_c de 4,7 dias e TDH de 17 horas. Segundo eles, o lodo granular pode ser utilizado como processo biotecnológico de alta taxa para otimizar o processo de alongamento de cadeia.

BIOAUMENTAÇÃO E BIOCÁRVÃO (BIOCHAR)

A produção de ACs pode ser potencializada pela inserção de uma espécie ou um grupo específico de microrganismo a uma cultura mista, técnica denominada de bioaumentação (DAMS *et al.*, 2018). Essa técnica

melhora a taxa de degradação e hidrogenação de compostos complexos pela combinação das rotas metabólicas dos microrganismos e auxilia na produção de precursores (ácido acético e ácido butírico) para o PACC (HUNG; CHANG; CHANG, 2011).

Dams *et al.* (2018) conduziram um experimento de produção de ácido caproico em reatores batelada pela fermentação acidogênica do glicerol residual utilizando lodo de cervejaria como inóculo e promovendo a bioaumentação com *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824. Etanol na concentração de 100 mM ($4,6 \text{ g L}^{-1}$) também foi adicionado aos biorreatores como fonte de elétrons para estimular o PACC. As concentrações finais de ácido caproico e de ácido caprílico aumentaram, respectivamente, de $1,61$ e $0,22 \text{ g L}^{-1}$ para $3,82$ e $1,72 \text{ g L}^{-1}$.

Tem sido demonstrado que a bioaumentação com *C. kluyveri* melhora o rendimento e até resulta em alongamento da cadeia até o ácido deca-noico (C10). A seleção do inóculo pode contribuir para a especificidade do ACCM, porém novas investigações são necessárias para avaliar a importância da seleção do inóculo (DE GROOF *et al.*, 2019). Além disso, ainda são escassos os trabalhos sobre bioaumentação de cultura mista para produção de C6 e não há pesquisas sobre a razão substrato/microrganismo ideal para maximizar a formação do produto desejado.

Outra técnica bastante promissora é o emprego de biocárvão (*biochar*), composto produzido a partir de biomassa via pirólise, que é um material bioestável com poros e fendas em sua superfície que fornece abrigo para microrganismos e locais de ligação para compostos tóxicos, podendo, por isso, ser usado como aditivo para combater um ambiente adverso. O *biochar* atrai inicialmente os microrganismos por adsorção eletrostática, seguida pela formação de biofilme. A formação densa de biofilme fornece defesa eficaz contra a toxicidade de ACs não dissociados. Além disso, a ligação de diferentes filamentos torna-se mais forte, facilitando a transferência de elétrons para oxidação de álcool e redução de acetato em butirato, que pode então ser convertido em hexanoato e caprilato (SUN *et al.*, 2020). Provavelmente, o intermediário dessa transferência eletrônica é o H_2 , formado pelas bactérias sintróficas e utilizado como doador de elétrons pelos microrganismos que promovem o alongamento de cadeia (LIU *et al.*, 2017).

Os resultados experimentais de Liu *et al.* (2017) mostraram que a adição de biocárvão aumentou as concentrações de caproato e a resistência microbiana a ACs não dissociados, além de melhorar a estabilidade da estrutura da comunidade microbiana. Neste estudo, a concentração de caproato aumentou de $14,3$ para $21,1 \text{ g C}_6 \text{ L}^{-1}$ com a adição de biocárvão e a fase *lag* foi reduzida em 2,3 vezes, em comparação com o sistema sem biocárvão. Esses efeitos de reforço do biocárvão são atribuídos à condutividade aumentada devido ao significativo enriquecimento de microrganismos funcionais por meio da rede microbiana que envolve pequenas partículas de biocárvão, assim como pela adsorção nas superfícies ásperas ou poros de partículas maiores, o que facilita a transferência de elétrons (LIU *et al.*, 2017; SUN *et al.*, 2020).

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS COM BASE EM DADOS RECENTES PUBLICADOS

Os dados publicados nos artigos que foram utilizados na elaboração deste trabalho estão resumidos na Tabela 1. Entre esses trabalhos, 65% utilizaram pH ácido (< 6,0), 23%, neutro (6,0 a 8,0) e

12%, básico (> 8,0); com relação ao tipo de alimentação, em 35% foi contínuo, 24%, semibatelada e 41%, batelada. Pode-se destacar que, de fato, o uso de pHs mais baixos é mais indicado, principalmente quando se utiliza extração de produtos em linha, como nos trabalhos de Agler *et al.* (2012), Ge *et al.* (2015) e Kucek, Nguyen e Angenent (2016).

Tabela 1 – Resultados de pesquisas sobre a produção de ácidos carboxílicos a partir da digestão anaeróbia.

Substrato / tipo de reator	Parâmetros operacionais			Produtividade (g L ⁻¹ d ⁻¹) / Rendimento (g g ⁻¹ DQO)					Autores
	pH/T (°C)	TDH (dias)	COV (g DQO L ⁻¹ d ⁻¹)	C2	C3	C4	C5	C6	
Cerveja da indústria de etanol de milho / Semibatelada ¹	5,5 / 30	120,0	-	0,95 / -	1,88 / -	1,13 / -	2,34 / -	2,10 / -	(AGLER <i>et al.</i> , 2012)
Cerveja de levedura fermentada / Semibatelada ¹	5,5 / 30	0,6	10,7	-	-	0,8 / 0,07	0,2 / 0,02	3,40 / 0,32	(GE <i>et al.</i> , 2015)
Resíduo alimentar / Batelada	6,0 / 30	20,0	6,0	0,50 / 0,08	0,20 / 0,03	1,5 / 0,25	0,1 / 0,02	-	(WANG <i>et al.</i> , 2014)
Resíduo alimentar / Batelada	6,0 / 35	5,0	6,7 ²	1,46 / 0,05 ⁴	0,76 / 0,02 ⁴	1,33 / 0,04 ⁴	0,74 / 0,02 ⁴	-	(JIANG <i>et al.</i> , 2013)
Resíduo alimentar / Semibatelada	5,5 / 45	8,0	8,7 ³	1,21 / 0,27 ⁵	0,01 / 0,02 ⁵	0,43 / 0,10 ⁵	0,13 / 0,03 ⁵	0,59 / 0,13 ⁵	(LIM <i>et al.</i> , 2008)
Águas residuárias sintéticas / Contínuo (UASB)	8,5 / Amb	0,3	1,2	0,28 / 0,23	0,09 / 0,08	0,08 / 0,07	0,08 / 0,07	-	(WANG <i>et al.</i> , 2013)
Lactato / Contínuo (UASB) ¹	5,0 / 34	1,9	17,7	1,28 / 0,07	-	0,29 / 0,02	-	3,10 / 0,18	(KUCEK; NGUYEN; ANGENENT, 2016)
Água amarela (lactato) / Batelada	5,5-6,5 / 30	16,0	4,2	0,02 / -	-	0,12 / 0,03	0,04 / 0,01	1,08 / 0,26	(ZHU <i>et al.</i> , 2015)
Lodo de ETE municipal / Semibatelada	6,6-7,1 / 55	2,5	11,4	0,81 / 0,07	0,11 / 0,01	0,17 / 0,01	0,20 / 0,02	-	(HAO; WANG, 2015)
Milho fibroso pré-tratado / Batelada (ASBRs)	5,5 / 30	15,0	1,9	0,34 / 0,18	-	0,43 / 0,22	-	0,33 / 0,17	(AGLER <i>et al.</i> , 2014)
Efluente de fermentador de gás de síntese + Etanol (11,4 g L ⁻¹) + Acetato (2,3 g L ⁻¹) / Contínuo (UASB)	5,5 / 30	0,6	45,0	-	-	20 / 0,44	-	1,7 / 0,04	(VASUDEVAN; RICHTER; ANGENENT, 2014)
Lodo primário e resíduos de lodo ativado de uma ETE / Batelada	11,0 / 35	15,0	0,2	0,07 / 0,35	0,02 / 0,10	0,02 / 0,10	-	0,01 / 0,05	(JANKOWSKA <i>et al.</i> , 2015)
Glicerol (5 g L ⁻¹) + Etanol (4,6 g L ⁻¹) + I.M. Clorofórmio / Batelada	6,5 / -	14,0	1,1	-	0,03 / 0,03	0,04 / 0,03	-	0,27 / 0,25	(DAMS <i>et al.</i> , 2018)
Metanol (6,4 g L ⁻¹) + Acetato (3 g L ⁻¹) / Batelada / Contínuo (UASB)	5,9-6,1 / 35	17,0	12,4	-	-	0,25 / 0,34	-	-	(CHEN <i>et al.</i> , 2016)
	5,9 / 30	1,5	15,3	-	-	1,50 / 0,10	-	-	
Acetato (6,0 g L ⁻¹) + Etanol (18,4 g L ⁻¹) / Contínuo (UASB)	5,6-8,6 / 30	0,7	62,3	-	-	1,5 / 0,02	-	15,7 / 0,25	(GROOTSCHOLTEN <i>et al.</i> , 2013a)
Acetato (6,0 g L ⁻¹) + Etanol (13,7 g L ⁻¹) / Contínuo (UASB)	6,5-7,2 / 30	0,2	206,0	13,8 / 0,07	-	96 / 0,05	-	55,8 / 0,27	(GROOTSCHOLTEN <i>et al.</i> , 2013c)

DQO: demanda química de oxigênio; TDH: tempo de detenção hidráulica; COV: carga orgânica volumétrica; UASB: *upflow anaerobic sludge blanket* (reator anaeróbio de manta de lodo de fluxo ascendente); ETE: estação de tratamento de esgoto; ASBR: *anaerobic sequencing batch reactor* (reator anaeróbio em batelada sequencial); I.M.: inibidor metanogênico; Amb: ambiente; extração de produtos em linha; ²g DQO_{SOLUVEL} L⁻¹ d⁻¹; ³g SV L⁻¹ d⁻¹; ⁴g g⁻¹ DQO_{SOLUVEL} L⁻¹ d⁻¹; ⁵g g⁻¹ SV_{ADICIONADA} L⁻¹ d⁻¹.

Entretanto, a extração dos ACs ainda é um dos principais gargalos da plataforma de produção biológica de ACs. Existem várias técnicas de recuperação de ácidos orgânicos, incluindo precipitação, extração, cristalização e destilação. Segundo Wang, Luo e Yu (2006), essas técnicas são desfavoráveis devido às suas desvantagens, tais como poluição sólida, altos custos dos compostos químicos utilizados, baixo rendimento e alto consumo de energia. Logo, métodos mais vantajosos em termos econômicos e ambientais estão sendo avaliados, entre eles: processos de extração com resina de troca iônica, eletrodialise e membrana de extração líquido-líquido (GE *et al.*, 2015).

Em relação à temperatura, apenas 1 dos 17 estudos apresentados usou condição termofílica, corroborando o que foi discutido anteriormente.

Quanto à COV, houve variação de 0,2 a 206,0 g DQO L⁻¹ d⁻¹, com TDHs de 0,2 a 120 dias, para substratos sintéticos e reais. Entretanto, tais estudos não fornecem muitas informações acerca da quantidade de inóculo utilizada. Assim, não é possível obter informações sobre a razão substrato/microrganismo (S/X). Dessa forma, tal parâmetro apresenta-se como um dos principais pontos a serem estudados em trabalhos futuros, pois, apesar de sua influência no processo, ainda é um parâmetro pouco investigado.

Para os reatores com TDH acima de cinco dias, foi preciso adotar medidas de inibição de microrganismos metanogênicos, como redução ou elevação do pH (faixa fora da neutralidade — 6,0 a 8,0), adição de inibidor químico (DAMS *et al.*, 2018) ou condição de anaerobiose facultativa (microaeração) (WANG *et al.*, 2014).

Outro ponto que precisa ser mais investigado no PACC é o número de estágios do sistema. Segundo Grootsholten *et al.* (2014), sistemas de múltiplos estágios apresentam algumas vantagens sobre sistemas de estágio único, como a possibilidade de otimizar a acidificação e o alongamento da cadeia separadamente bem como de evitar a adsorção de ACCM a partículas sólidas presentes no substrato, principalmente quando se utiliza águas residuárias para alimentar o sistema. Entretanto, esses sistemas são mais complexos e envolvem custos mais altos.

Dos trabalhos presentes na Tabela 1, apenas Vasudevan, Richter e Angenent (2014) utilizaram sistemas de dois estágios. O ácido caproico foi produzido em um sistema de biorreatores de fermentação de gás de síntese de duas etapas, em que o efluente gerado no primeiro reator (acidogênicos), rico em ACCC, foi utilizado em um reator caprogênico. A maior taxa de produção volumétrica de ácido n-caproico encontrada por esses autores foi de 1,7 gC6 L⁻¹ d⁻¹. Provavelmente, a produtividade foi baixa por causa da toxicidade do acúmulo de ácidos carboxílicos não dissociados em pH baixo (~5,5). Portanto, utilizar também extração de produtos em linha pode ser uma alternativa para elevar a taxa de produção de C6.

As informações apresentadas neste tópico objetivam nortear a tomada de decisões em projetos de unidades de produção de ácidos carboxílicos a partir da digestão anaeróbia. Entretanto, ainda há desafios a serem superados nessa área, além das dificuldades operacionais.

Um dos principais gargalos na plataforma carboxílica deve-se ao fato de que os produtos são formados em concentrações moderadas a baixas, em grande parte devido à toxicidade dos substratos e dos próprios produtos de interesse (ACs). O ácido caproico, por exemplo, quando na forma não dissociada, passa a inibir a acidogênese em valores próximos a 0,87 g/L e, normalmente, um módulo de extração *in situ* é a escolha preferida para solucionar os problemas de toxicidade do produto (LIU *et al.*, 2017).

Entretanto, a extração dos ácidos de interesse ainda é um grande desafio enfrentado na plataforma carboxílica. A recuperação desses compostos aumenta significativamente o custo total da produção de AC a partir da digestão anaeróbia. O desafio é selecionar métodos de recuperação com boa relação custo-benefício. Para mais informações acerca deste assunto, recomenda-se consultar a revisão de Atasoy *et al.* (2018).

CONCLUSÕES

Em geral, as condições que apresentam melhor viabilidade para produção de ACCM são: pH próximo a 6,0; temperatura mesofílica, já que oferece maior estabilidade operacional e os rendimentos obtidos em condições termofílicas não se mostram muito superiores; PPH próxima a 10⁻⁵ aliada à limitação de CO₂; $\theta_c < 5$ dias; e TDH baixo para sistemas contínuos. Entretanto, esses parâmetros têm efeitos interligados, sendo necessária uma visão holística para definir as melhores configurações do processo.

Então, uma das configurações mais promissoras é o uso de sistemas de dois estágios utilizando baixo pH como inibidor da metanogênese e extração de ACs em linha, para evitar a inibição por causa da toxicidade dos produtos.

Com relação ao substrato, aqueles que têm doadores de elétrons *in natura* ou os produzem em quantidade significativa durante a digestão anaeróbia se mostram potenciais produtores de ACCM, como os resíduos agroindustriais. Essa associação da digestão anaeróbia aliada com o alongamento de cadeia é mais vantajosa, em relação aos sistemas de metanização tradicionais, diante do elevado valor agregado dos compostos químicos que podem ser recuperados, mas ainda necessita de muitas pesquisas com foco não somente na produção, mas também na subsequente extração do meio líquido dos diferentes ácidos carboxílicos desejados.

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

- AGLER, M.T.; SPIRITO, C.M.; USACK, J.G.; WENER, J.J.; ANGENENT, L.T. (2012) Chain elongation with reactor microbiomes: Upgrading dilute ethanol to medium-chain carboxylates. *Energy and Environmental Science*, v. 5, n. 8, p. 8189-8192. <https://doi.org/10.1039/C2EE22101B>
- AGLER, M.T.; SPIRITO, C.M.; USACK, J.G.; WERNER, J.J.; ANGENENT, L.T. (2014) Development of a highly specific and productive process for n-caproic acid production: Applying lessons from methanogenic microbiomes. *Water Science and Technology*, v. 69, n. 1, p. 62-68. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.549>
- ANGENENT, L.T.; AGLER, M.T. (2017) *Production of carboxylates and methane from biomass waste*. Estados Unidos. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US9650652B2/en>>. Acesso em: 2 nov. 2019.
- ANGENENT, L.T.; RICHTER, H.; BUCKEL, W.; SPIRITO, C.M.; STEINBUSCH, K.J.J.; PLUGGE, C.M.; STRIK, D.P.B.T.B.; GROOTSCHOLTEN, T.I.M.; BUISMAN, C.J.N.; HAMELERS, H.W.M. (2016) Chain Elongation with Reactor Microbiomes: Open-Culture Biotechnology to Produce Biochemicals. *Environmental Science and Technology*, v. 50, n. 6, p. 2796-2810. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04847>
- ATASOY, M.; OWUSU-AGYEMAN, I.; PLAZA, E.; CETECIOGLU, Z. (2018) Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges. *Bioresource Technology*, v. 268, p. 773-786. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.042>
- BARKER, H.A.; TAHA, S.M. (1942) *Clostridium kluverii*, an organism concerned in the formation of caproic acid from ethyl alcohol. *Journal of Bacteriology*, v. 43, n. 3, p. 347-363.
- BASTIDAS-OYANEDEL, J.R.; SCHMIDT, J.E. (2018) Increasing profits in food waste biorefinery—a techno-economic analysis. *Energies*, v. 11, n. 6, p. 1551. <https://doi.org/10.3390/en11061551>
- BOLAJI, I.O.; DIONISI, D. (2017) Acidogenic fermentation of vegetable and salad waste for chemicals production: Effect of pH buffer and retention time. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 5, n. 6, p. 5933-5943. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.11.001>
- CAVALCANTE, W.A.; LEITÃO, R.C.; GEHRING, T.A.; ANGENENT, L.T.; SANTAELLA, S.T. (2017) Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: A review. *Process Biochemistry*, v. 54, p. 106-119. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.12.024>
- CHEN, W.S.; YE, Y.; STEINBUSCH, K.J.J.; STRIK, D.P.B.T.B.; BUISMAN, C.J.N. (2016) Methanol as an alternative electron donor in chain elongation for butyrate and caproate formation. *Biomass and Bioenergy*, v. 93, p. 201-208. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.07.008>
- CHERNICHARO, C.A.L.; RIBEIRO, T.B.; GARCIA, G.B.; LERMONTOW, A.; PLATZER, C.J.; POSSETTI, G.R.C.; ROSSETO, M.A.L.L.R. (2018) Panorama do tratamento de esgoto sanitário nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil: tecnologias mais empregadas. *Revista DAE*, v. 66, n. 213, p. 5-19. <https://doi.org/10.4322/dae.2018.028>
- COMA, M.; VILCHEZ-VARGAS, R.; ROUME, H.; JAUREGUI, R.; PIEPER, D.H.; RABAEY, K. (2016) Product Diversity Linked to Substrate Usage in Chain Elongation by Mixed-Culture Fermentation. *Environmental Science and Technology*, v. 50, n. 12, p. 6467-6476. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b06021>
- DAMS, R.I.; VIANA, M.B.; GUILHERME, A.A.; SILVA, C.M.; SANTOS, A.B.; ANGENENT, L.T.; SANTAELLA, S.T.; LEITÃO, R.C. (2018) Production of medium-chain carboxylic acids by anaerobic fermentation of glycerol using a bioaugmented open culture. *Biomass and Bioenergy*, v. 118, p. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.07.023>
- DE GROOF, V.; COMA, M.; ARNOT, T.; LEAK, D.J.; LANHAM, A.B. (2019) Medium Chain Carboxylic Acids from Complex Organic Feedstocks by Mixed Culture Fermentation. *Molecules*, v. 24, n. 3, p. 398. <https://doi.org/10.3390/molecules24030398>
- DU, G.; LIU, L.; CHEN, J. (2015) *White Biotechnology for Organic Acids*. [s.l.]: Elsevier B.V.
- DWIDAR, M.; PARK, J.-Y.; MITCHELL, R.J.; SANG, B.-I. (2012) The future of butyric acid in industry. *The Scientific World Journal*, v. 2012, 471417. <https://doi.org/10.1100/2012/471417>
- FDEZ-GÜELFO, L.A.; ÁLVAREZ-GALLEGO, C.; SALES, D.; ROMERO, L.I. (2011) The use of thermochemical and biological pretreatments to enhance organic matter hydrolysis and solubilization from organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *Chemical Engineering Journal*, v. 168, n. 1, p. 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.12.074>
- GARCIA-AGUIRRE, J.; AYMERICH, E.; GOÑI, J.G.-M.; ESTEBAN-GUTIÉRREZ, M. (2017) Selective VFA production potential from organic waste streams: Assessing temperature and pH influence. *Bioresource Technology*, v. 244, parte I, p. 1081-1088. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.187>
- GE, S.; USACK, J.G.; SPIRITO, C.M.; ANGENENT, L.T. (2015) 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. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00238>
- GROOTSCHOLTEN, T.I.M.; STEINBUSCH, K.J.J.; HAMELERS, H.W.M.; BUISMAN, C.J.N. (2013a) Chain elongation of acetate and ethanol in an upflow anaerobic filter for high rate MCFA production. *Bioresource Technology*, v. 135, p. 440-445. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.165>
- GROOTSCHOLTEN, T.I.M.; STEINBUSCH, K.J.J.; HAMELERS, H.W.M.; BUISMAN, C.J.N. (2013b) High rate heptanoate production from propionate and ethanol using chain elongation. *Bioresource Technology*, v. 136, p. 715-718. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.085>

- GROOTSCHOLTEN, T.I.M.; STEINBUSCH, K.J.J.; HAMELERS, H.V.M.; BUISMAN, C.J.N. (2013c) Improving medium chain fatty acid productivity using chain elongation by reducing the hydraulic retention time in an upflow anaerobic filter. *Bioresource Technology*, v. 136, p. 735-738. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.114>
- GROOTSCHOLTEN, T.I.M.; STRIK, D.P.B.T.B.; STEINBUSCH, K.J.J.; BUISMAN, C.J.N.; HAMELERS, H.V.M. (2014) Two-stage medium chain fatty acid (MCFA) production from municipal solid waste and ethanol. *Applied Energy*, v. 116, p. 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.11.061>
- GRUHN, M.; FRIGON, J.C.; GUIOT, S.R. (2016) Acidogenic fermentation of *Scenedesmus* sp.-AMDD: Comparison of volatile fatty acids yields between mesophilic and thermophilic conditions. *Bioresource Technology*, v. 200, p. 624-630. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.087>
- HAO, L.; LÜ, F.; LI, L.; SHAO, L.; HE, P. (2013) Response of anaerobes to methyl fluoride, 2-bromoethanesulfonate and hydrogen during acetate degradation. *Journal of Environmental Sciences*, v. 25, n. 5, p. 857-864. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60203-4](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60203-4)
- HAO, J.; WANG, H. (2015) Volatile fatty acids productions by mesophilic and thermophilic sludge fermentation: Biological responses to fermentation temperature. *Bioresource Technology*, v. 175, p. 367-373. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.106>
- HE, M.; SUN, Y.; ZOU, D.; YUAN, H.; ZHU, B.; LI, X.; PANG, Y. (2012) Influence of Temperature on Hydrolysis Acidification of Food Waste. *Procedia Environmental Sciences*, v. 16, p. 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.10.012>
- HUNG, C.-H.; CHANG, Y.-T.; CHANG, Y.-J. (2011) Roles of microorganisms other than *Clostridium* and *Enterobacter* in anaerobic fermentative biohydrogen production systems—a review. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 18, p. 8437-8444. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.084>
- INTERNATIONAL ENERGY AGENCY BIOENERGY (IEA BIOENERGY). (2017) *IEA Bioenergy Task 37-Country Reports Summary 2016*. [s.l.: s.n.].
- JANKOWSKA, E.; CHWIALKOWSKA, J.; STODOLNY, M.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. (2015) Effect of pH and retention time on volatile fatty acids production during mixed culture fermentation. *Bioresource Technology*, v. 190, p. 274-280. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.096>
- JIANG, J.; ZHANG, Y.; LI, K.; WANG, Q.; GONG, C.; LI, M. (2013) Volatile fatty acids production from food waste : Effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology*, v. 143, p. 525-530. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.025>
- KUCEK, L.A.; NGUYEN, M.; ANGENENT, L.T. (2016) Conversion of L-lactate into n-caproate by a continuously fed reactor microbiome. *Water Research*, v. 93, p. 163-171. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.018>
- LIM, S.J.; KIM, B.J.; JEONG, C.-M.; CHOI, J.-D.-R.; AHN, Y.H.; CHANG, H.N. (2008) Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 16, p. 7866-7874. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.028>
- LIU, Y.; HE, P.; SHAO, L.; ZHANG, H.; LÜ, F. (2017) Significant enhancement by biochar of caproate production via chain elongation. *Water Research*, v. 119, p. 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.050>
- MOSCOVIZ, R.; TRABLY, E.; BERNET, N.; CARRÈRE, H. (2018) The environmental biorefinery: State-of-the-art on the production of hydrogen and value-added biomolecules in mixed-culture fermentation. *Green Chemistry*, v. 20, n. 14, p. 3159-3179. <https://doi.org/10.1039/C8GC00572A>
- NING, Y.Y.; JIN, D.-W.; SHENG, G.-P.; HARADA, H.; SHI, X.-Y. (2012) 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. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.07.038>
- OMIL, F.; LENS, P.; VISSER, A.; POL, L.W.H.; LETTINGA, G. (1998) Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 57, n. 6, p. 676-685. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980320\)57:6%3C676::AID-BIT5%3E3.O.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980320)57:6%3C676::AID-BIT5%3E3.O.CO;2-I)
- PHAM VAN, D.; HOANG, M.G.; PHU, S.T.P.; FUJIWARA, T. (2018) Kinetics of carbon dioxide, methane and hydrolysis in co-digestion of food and vegetable wastes. *Global Journal of Environmental Science and Management*, v. 4, n. 4, p. 401-412. <https://doi.org/10.22034/gjesm.2018.04.002>
- REDDY, M.V.; ELMEKAWY, A.; PANT, D. (2018) Bioelectrochemical synthesis of caproate through chain elongation as a complementary technology to anaerobic digestion. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 12, n. 6, p. 966-977. <https://doi.org/10.1002/bbb.1924>
- ROGHAIR, M.; HOOGSTAD, T.; STRIK, D.P.B.T.B.; PLUGGE, C.M.; TIMMERS, P.H.A.; WEUSTHUIS, R.A.; BRUINS, M.E.; BUISMAN, C.J.N. (2018) Controlling Ethanol Use in Chain Elongation by CO₂ Loading Rate. *Environmental Science and Technology*, v. 52, n. 3, p. 1496-1505. <https://dx.doi.org/10.1021%2Facs.est.7b04904>
- ROGHAIR, M.; STRIK, D.P.B.T.B.; STEINBUSCH, K.J.J.; WEUSTHUIS, R.A.; BRUINS, M.E.; BUISMAN, C.J.N. (2016) Granular sludge formation and characterization in a chain elongation process. *Process Biochemistry*, v. 51, n. 10, p. 1594-1598. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.06.012>
- SEEDORF, H.; FRICKE, W.F.; VEITH, B.; BRÜGGEMANN, H.; LIESEGANG, H.; STRITTMATTER, A.; MIETHKE, M.; BUCKEL, W.; HINDERBERGER, J.; LI, F.; HAGEMEIER, C.; THAUER, R.K.; GOTTSCHALK, G. (2008) The genome of *Clostridium kluyveri*, a strict anaerobe. *PNAS*, v. 105, n. 6, p. 2128-2133. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711093105>
- STEINBUSCH, K.J.J.; HAMELERS, H.V.M.; PLUGGE, C.M.; BUISMAN, C.J.N. (2011) 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. <https://doi.org/10.1039/C0EE00282H>

- SUN, X.; ATIYEK, H.K.; LI, M.; CHEN, Y. (2020) Biochar facilitated bioprocessing and biorefinery for productions of biofuel and chemicals: A review. *Bioresource Technology*, v. 295, 122252. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122252>
- TAO, Y.; ZHU, X.; WANG, H.; WANG, Y.; LI, X.; JIN, H.; RUI, J. (2017) Complete genome sequence of Ruminococcaceae bacterium CPB6: A newly isolated culture for efficient n-caproic acid production from lactate. *Journal of Biotechnology*, v. 259, p. 91-94. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.07.036>
- VASUDEVAN, D.; RICHTER, H.; ANGENENT, L.T. (2014) Upgrading dilute ethanol from syngas fermentation to n-caproate with reactor microbiomes. *Bioresource Technology*, v. 151, p. 378-382. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.105>
- VERGINE, P.; SOUSA, F.; LOPES, M.; SILVA, F.; GAMEIRO, T.; NADAIS, H.; CAPELA, I. (2015) Synthetic soft drink wastewater suitability for the production of volatile fatty acids. *Process Biochemistry*, v. 50, n. 8, p. 1308-1312. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.04.007>
- WANG, Z.; LUO, Y.; YU, P. (2006) Recovery of organic acids from waste salt solutions derived from the manufacture of cyclohexanone by electrodialysis. *Journal of Membrane Science*, v. 280, n. 1-2, p. 134-137. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.01.015>
- WANG, D.; WANG, G.; XU, X.; YANG, F. (2013) Multiple factors influencing anaerobic acidogenic pretreatment in an up-flow non-woven biofilm reactor. *Chemical Engineering Journal*, v. 221, p. 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.01.104>
- WANG, K.; YIN, J.; SHEN, D.; LI, N. (2014) Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: Effect of pH. *Bioresource Technology*, v. 161, p. 395-401. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.088>
- WEIMER, P.J.; STEVENSON, D.M. (2012) Isolation, characterization, and quantification of *Clostridium kluyveri* from the bovine rumen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 94, n. 2, p. 461-466. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3751-z>
- XU, J.; HAO, J.; GUZMAN, J.J.L.; SIPRITO, C.M.; HARROFF, L.A.; ANGENENT, L.T. (2018) Temperature-Phased Conversion of Acid Whey Waste Into Medium-Chain Carboxylic Acids via Lactic Acid: No External e-Donor. *Joule*, v. 2, n. 2, p. 280-295. <https://doi.org/10.1016/j.joule.2017.11.008>
- YIN, Y.; ZHANG, Y.; KARAKASHEV, D.B.; WANG, J.; ANGELIDAKI, I. (2017) Biological caproate production by *Clostridium kluyveri* from ethanol and acetate as carbon sources. *Bioresource Technology*, v. 241, p. 638-644. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.184>
- ZHANG, F.; DING, J.; ZHANG, Y.; CHEN, M.; DING, Z.-W.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; ZENG, R.J. (2013) Fatty acids production from hydrogen and carbon dioxide by mixed culture in the membrane biofilm reactor. *Water Research*, v. 47, n. 16, p. 6122-6129. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.07.033>
- ZHANG, P.; CHEN, Y.; ZHOU, Q. (2009) Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under mesophilic and thermophilic conditions: Effect of pH. *Water Research*, v. 43, n. 15, p. 3735-3742. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.05.036>
- ZHOU, M.; YAN, B.; WONG, J.W.C.; ZHANG, Y. (2018) Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology*, v. 248, parte A, p. 68-78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>
- ZHU, X.; TAO, Y.; LIANG, C.; LI, X.; WEI, N.; ZHANG, W.; ZHOU, Y.; YANG, Y.; BO, T. (2015) The synthesis of n-caproate from lactate: A new efficient process for medium-chain carboxylates production. *Scientific Reports*, v. 5, 14360. <https://doi.org/10.1038/srep14360>