

II-109 – AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE GLICEROL RESIDUAL NA PRODUÇÃO DE 1,3-PROPANODIOL

Ana Carolina de Oliveira Nobre⁽¹⁾

Química pela Universidade Estadual do Ceará (UECE). Doutoranda em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental na Universidade Federal do Ceará (UFC).

Tasso Jorge Tavares Ferreira⁽¹⁾

Cientista Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Alexandre Rodrigues Ribeiro⁽¹⁾

Cientista Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

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

Renato Carrhá Leitão⁽²⁾

Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical. PhD em Environmental Sciences pela Wageningen University, Holanda.

Endereço⁽¹⁾: Av. Mister Hull, s/n – Pici, Bloco 713, Centro de Tecnologia, Fortaleza, CE - CEP: 60451-970 - Brasil - Tel: +55 (85) 3366-9624 - e-mail: carolnobre1404@gmail.com

(2): Rua Dra Sara Mesquita, 2270 – Pici, Fortaleza, CE - CEP: 60020-181 - Brasil - Tel: +55 (85) 3391-7100

RESUMO

A produção de metabólitos por bioprocessos fermentativos torna-se uma alternativa cada vez mais atraente para os ramos industriais. 1,3-propanodiol é um composto com características bifuncionais importantes em diversos setores, principalmente na produção de polímeros para a indústria de transportes. Por outro lado, o glicerol residual é um importante resíduo líquido da produção de biocombustíveis, sendo estimado em 1kg de glicerol para cada 10kg de biodiesel produzido. Assim, buscam-se alternativas de transformação de resíduos líquidos e sólidos em produtos de elevado valor agregado, como alguns ácidos orgânicos e álcoois. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da concentração inicial de glicerol residual na produção de 1,3-propanodiol mantendo-se constante a relação alimento-microrganismo (A/M). O experimento foi conduzido em batelada, por 17 dias, variando-se 4 concentrações distintas de substrato em termos de DQO: 5, 10, 25 e 50 g/L. Foram utilizadas garrafas em borossilicato de 250 mL, com 200 mL preenchidos com meio basal com pH 7, e incubadas a 30° C a 113 rpm. Como fonte de inóculo, utilizou-se lodo anaeróbio proveniente de uma estação de tratamento de esgoto sanitário. Adicionou-se clorofórmio (0,05%) em cada frasco, como inibidor seletivo da atividade metanogênica. Das amostragens líquidas coletadas, foram feitas análises físico-químicas e cromatográficas. Foi possível a produção de 1,3-propanodiol a partir do glicerol residual utilizando-se lodo anaeróbio não adaptado. Os resultados indicam que o 1,3-propanodiol teve maior produção ao utilizar uma DQO de 25 g/L de matéria orgânica, com produção de cerca de 7,76 g/L de 1,3-propanodiol. Dentre os principais ácidos carboxílicos encontrados ao final do ensaio, houve maior geração de ácido propiônico, seguido de acético e butírico. Os ácidos láctico e succínico também foram detectados, mas em quantidades menores. Assim, novos trabalhos devem ser conduzidos em fluxo contínuo, de maneira a se otimizar as produções de 1,3-propanodiol, assim como se estudar formas de extraí-lo do líquido.

PALAVRAS-CHAVE: 1,3-propanodiol, glicerol residual, digestão anaeróbia, biorrefinaria.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda energética aliada ao crescimento populacional reflete na busca cada vez mais frequente de tecnologias mais favoráveis ao desenvolvimento de biomateriais, o que caracteriza a implantação do sistema de química verde. Tal ferramenta torna-se cada vez mais útil às aplicações industriais por proporcionar a degradação de resíduos sólidos e líquidos por meio de rotas limpas ambientalmente, como as rotas metabólicas microbianas. As reações biocatalisadas, empregando-se células íntegras ou enzimas, representam uma extensão

das rotas clássicas de síntese, com significantes reduções nos impactos ambientais, sendo um dos processos que podem ser explorados no desenvolvimento da química verde (LEE *et al.*, 2015).

O glicerol é um subproduto do processo de produção de biodiesel, combustível derivado da reação de transesterificação de óleos vegetais e gordura animal (LO *et al.*, 2013). Apesar de o glicerol residual ser usado pela indústria química, em breve o aumento da demanda por biodiesel levará a um excesso desse subproduto e, consequentemente, se tornará um passivo ambiental. A cada 10 kg de biodiesel produzido, é gerado cerca de 1 kg de glicerol residual (YANG; HANNA; SUN, 2012). O glicerol é um triálcool presente em muitas aplicações na indústria de cosméticos, tintas, alimentos, farmacêutica, papéis e têxtil, sendo considerado um substrato altamente fermentável em conversões microbiológicas (PAULO; MACK; CONTIERO, 2009). *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Clostridium* e *Enterobacter* são bactérias anaeróbias que metabolizam o glicerol por via reductiva e oxidativa, cujas rotas de produção geram aldeído e cetona respectivamente, por tautomeria cetoenólica. A desidratação ocorre pela via reductiva, em que é necessário o uso de glicerol-desidratase, para formação posterior de 1,3-propanodiol e consumo de NADH (HE; MCNUTT; YANG, 2017). Ao mesmo tempo, o glicerol é oxidado aos metabólitos CO₂, H₂, acetato, butirato, etanol, butanol ou 2,3-butanodiol, produzindo energia e poder redutor para o crescimento celular (XIN *et al.*, 2016).

O 1,3-propanodiol (1,3-PPD) é um diálcool produzido por rotas químicas ou biológicas. Os processos envolvidos na síntese orgânica do 1,3-PPD partem da hidratação da acroleína ou da abertura do anel cíclico do óxido de etileno através de um catalisador organometálico. No entanto, essas reações impactam negativamente o meio ambiente, por liberarem gases tóxicos e poluentes, além de serem diretamente dependentes de combustíveis fósseis (SILVA *et al.*, 2014). Biologicamente, 1,3-PPD pode ser obtido através da desidratação do glicerol seguida pela hidrogenação do 3-hidroxi-propionaldeído, catalisada pela enzima glicerol desidrogenase, em que há geração de ATP e redutores equivalentes, como o NADH. As bactérias capazes de realizar essa redução são as espécies de *Lactobacillus*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Clostridium*, sendo essas últimas as mais estudadas.

As aplicações comerciais desse álcool abrangem vários ramos industriais, tais como o de cosméticos, alimentos, meios de transporte e medicinais. Devido às suas características estruturais, o 1,3-PDO tem aplicabilidade principal para produção de polímeros, dentre eles: poliésteres, poliéteres e poliuretanos (MU *et al.*, 2006). A bifuncionalidade orgânica permite a utilização de 1,3-PPD em dióis usados principalmente como aditivos de automóveis, conhecidos comercialmente como etileno glicol, 1,3-butanodiol e 1,4-butanodiol, não apresentando toxicidade à saúde humana (ZHAO; CHEN; YAO, 2006).

A síntese desse bioálcool inclui etapas fermentativas em meio anaeróbio, com escalas iniciais de pH entre 6 a 7, propiciando vantagens energéticas às bactérias acidogênicas, por estabilidade termodinâmica. A fim de propiciar o sucesso na produção de 1,3-PDD, o controle operacional de biorreatores é fundamental, o que pode ser favorecido com o uso de sistemas em batelada, através do monitoramento quantitativo da solução nutritiva, substrato e inibidor metanogênico aplicados. As variações nas concentrações iniciais de substrato para verificação de aumento de rendimento de 1,3-PPD são frequentemente estudadas (PEREZ *et al.*, 2013); (AGLER *et al.*, 2012), no entanto, sempre com o uso de culturas puras, o que encarece o custo de produção.

Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da concentração inicial de glicerol residual na produção de 1,3-propanodiol mantendo-se constante a relação alimento/microrganismo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical, localizada em Fortaleza, Ceará, Brasil. A produção de 1,3 propanodiol (1,3-PPD) foi avaliada por experimento em batelada, em que quatro concentrações de substrato em termos de DQO (5, 10, 25 e 50 g/L) de glicerol residual foram testadas. A fim de comparar a produtividade de 1,3-PPD com uma matéria orgânica altamente fermentativa (glicose) e um meio sem substrato algum, foram testados dois controles: um positivo na presença de glicose e outro negativo na forma de controle endógeno. As bateladas ocorreram continuamente durante 17 dias, adotando pH inicial 7,0 (sem controle ao decorrer do tempo reacional), agitação (113 a 114) e temperatura (30°C) constantes. Os reatores consistiram em frascos reagentes em borossilicato de 250 mL,

sendo 200 mL de volume útil e 50 mL de *headspace*, fechados com borracha em butila e tampa em alumínio, os quais eram colocados em incubadora Tecnal, com agitação orbital TE-4200. Foram realizadas amostragens manuais da fração líquida realizadas no início, 3º dia, 6º dia, 11º dia e 17º dia de incubação (fim); enquanto que o biogás produzido foi coletado utilizando bolsas coletoras de gás. O experimento foi conduzido em duplicata (Figura 1).



Figura 1: Ilustração do sistema utilizado nos ensaios em batelada.

O inóculo utilizado consistia de um lodo anaeróbio proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) sanitário Aracapé, localizada em Fortaleza, Ceará. O substrato utilizado nos reatores foi o glicerol residual oriundo da produção de biodiesel da unidade da empresa Petróleo Brasileiro S.A. (localizada no município de Quixadá-CE).

O líquido reacional era composto por glicerol, lodo doméstico, solução de nutrientes, aferidos para 200 mL de água destilada, mantendo-se a relação alimento/microrganismo (A/M) constante (2). Adicionou-se clorofórmio (0,05%) em cada frasco, como inibidor seletivo da atividade metanogênica. O consumo de alcalinidade e manutenção do pH entre 6,91 e 7,10 foi feito por adição de 1,0 g de NaHCO_3/L . Para manutenção da anaerobiose, foi realizada a purga de oxigênio por um minuto, com injeção de N_2 100% (White Martins, Fortaleza). A determinação dos volumes dos componentes da mistura reacional deu-se conforme CHERNICHARO (2007) e a solução de nutrientes utilizada foi a proposta por Viana *et al.* (2012).

O desempenho dos reatores quanto à produção de 1,3-propanodiol foi medido por análises físico-químicas e cromatográficas (Tabela 1). A DQO e o pH foram determinadas de acordo com *Standard Methods* (APHA, 2012). Para quantificações de álcoois e ácidos graxos voláteis (AGVs) presentes, foi utilizada a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em cromatógrafo líquido da marca Shimadzu Corporation, Japão, coluna Aminex HPX-87H (BIORAD) com detecção por índice de refração, segundo metodologia proposta por De Sá *et al.* (2011). A fração de biogás foi caracterizada em termos de ar ($\text{O}_2 + \text{N}_2$), CH_4 e CO_2 , por cromatografia gasosa com detecção por condutividade térmica (GC-TCD, *gas chromatography-thermal conductivity detection*) (GC-17A, Shimadzu Corporation, Japão), de acordo com CARNEIRO (2012).

Tabela 1: Descrições dos parâmetros físico-químicos e cromatográficos testados.

Parâmetros	Método	Referência
DQO	5220 C	APHA (2012)
pH	4500 H ⁺ B	APHA (2012)
AGVs	CLAE	De Sá <i>et al.</i> (2011)
Álcoois	CLAE	De Sá <i>et al.</i> (2011)
Biogás	CG	Carneiro (2012)

RESULTADOS OBTIDOS

A Tabela 2 apresenta o desempenho dos sistemas quanto às análises físico-químicas realizadas e composição da fração gasosa dos reatores. Em cada linha, encontram-se as médias das duplicatas e desvios padrões.

Tabela 2: Desempenho dos sistemas quanto ao monitoramento físico-químico e cromatográfico.

DQO inicial (g/L)	pH inicial	pH final	DQO final (g/L)	N ₂ (%)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)
5	7,00±0,21	5,95±0,33	6,9±0,1	0,20±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
10	7,03±0,11	5,14±0,31	14,8±0,2	0,12±0,01	0,00±0,00	0,08±0,01
25	7,10±0,18	4,56±0,46	31,6±0,2	0,16±0,03	0,00±0,00	0,07±0,00
50	7,10±0,20	5,96±0,34	61,5±0,1	0,16±0,04	0,00±0,00	0,04±0,02
Controle positivo	6,91±0,08	6,05±0,20	1,6±0,01	0,20±0,02	0,00±0,00	0,00±0,00
Controle negativo	6,91±0,09	7,09±0,19	0,1±0,04	0,20±0,03	0,00±0,00	0,00±0,00

O consumo de glicerol residual e a produção de 1,3-PPD, bem como a produtividade do composto ao decorrer do tempo, são apresentados na Figura 2.

Os ácidos carboxílicos e demais metabólitos produzidos durante a fermentação são apresentados na Tabela 3.

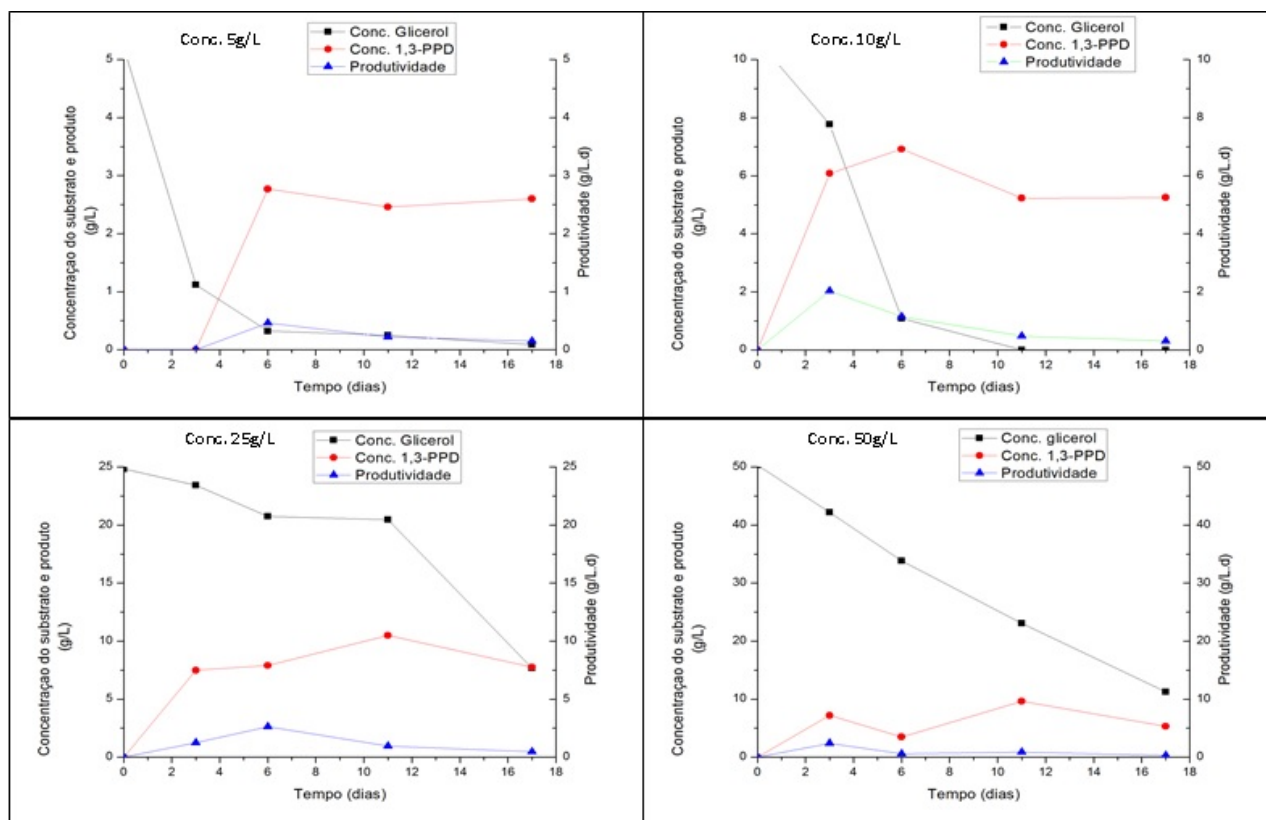


Figura 2: Relação de consumo de substrato, formação de produto e produtividade de 1,3-PPD ao decorrer dos dias de monitoramento.

Tabela 3: Compostos biológicos produzidos sob diferentes concentrações de glicerol residual, analisados no último dia de monitoramento.

DQO inicial (g/L)	Metabólitos produzidos (g/L)					1,3-PPD
	Ácido acético	Ácido propiônico	Ácido butírico	Ácido láctico	Ácido succínico	
5	0,88 ± 0,12	3,02 ± 0,09	1,54 ± 0,08	-	1,20 ± 0,10	2,77 ± 0,07
10	1,07 ± 0,13	7,03 ± 0,12	1,85 ± 0,09	-	1,26 ± 0,08	5,25 ± 0,05
25	2,42 ± 0,05	8,50 ± 0,03	1,44 ± 0,06	1,40 ± 0,10	-	7,76 ± 0,09
50	2,28 ± 0,06	6,20 ± 0,08	-	-	-	5,32 ± 0,06

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A produção de 1,3-PPD tem como fonte microbiana o grupo das bactérias, utilizando exclusivamente o glicerol como fonte de carbono (SILVA *et al.*, 2014). A via produtiva é a redutiva, em que há uma reação de desidratação e, assim, 1,3-PPD é produzido a partir de 3-hidroxi propionaldeído. Em culturas mistas, o rendimento de produção está associado à geração de ácido acético em elevada quantidade por bactérias acidogênicas.

Os resultados do monitoramento físico-químico (Tabela 2) refletem que ocorreu acidificação nos meios reacionais, provavelmente devido à formação de ácidos graxos voláteis, tais como acético, propiônico, butírico, láctico e succínico – detectados em todas as garrafas. Da mesma forma, Forest *et al.* (2010) encontraram concentrações elevadas de ácidos carboxílicos, testando em batelada diferentes tipos de glicerol: residual, destilado e refinado. Os ácidos encontrados em maior quantidade pelos autores são acético (61,6 g/L) e butírico (36,5 g/L), observando apenas a degradação do glicerol residual.

Os valores de DQO final (Tabela 2) indicam que houve acúmulo dos ácidos produzidos em cada biorreator, já que, em concentrações a partir de 10 g/L a DQO final medida foi maior que a DQO de substrato inserida em cada frasco no início. Isso remete uma determinada incerteza na análise da DQO na caracterização e diluições utilizadas, aliado ao fato de que o rendimento de 1,3-PPD e demais produtos foi elevado. Vlassis *et al.* (2012) e Seifert *et al.* (2009), ao verificarem o rendimento de H₂, 1,3-PDD e ácido propiônico em testes de batelada sem controle de pH, a partir do glicerol residual, encontraram uma certa dificuldade de fechamento no balanço de carbono.

Devido à inibição da metanogênese com clorofórmio, não foi encontrado gás metano nos sistemas. O gás carbônico, mesmo que em baixas concentrações, deve-se à acidificação dos reatores, já que nas reações envolvidas em rotas biossintéticas, há liberação desse composto.

Conforme apresentado na Figura 2, somente nas concentrações de DQO de 5 g/L e 10 g/L, o glicerol foi completamente consumido. No entanto, as maiores produções de 1,3 PPD foram obtidas quando a DQO era de 25 e 50 g/L. A maior produção ocorreu na DQO de 25 g/L (7,76 g/L de 1,3-PPD), enquanto que a menor foi observada na DQO de 5 g/L (2,77 g/L de 1,3-PPD).

Uma relação entre o consumo de glicerol, produção de 1,3-PPD e produtividade de 1,3-PPD foi realizada, comparando-se os autores ao longo dos anos com o presente trabalho (Tabela 3). Observa-se, assim, que a produção em batelada de 1,3-propanodiol utilizando cultura mista é pouco estudada. Trabalhos como Saint-Amans *et al.* (1994), Deckwer (1995) e Bielb (2001), produziram 1,3-propanodiol utilizando cultura pura, para DQO inicial de 65 g/L, 50,9 g/L e 50 g/L, com produções de 1,3-PPD de 35 g/L, 22,3 g/L e 22,0 g/L, respectivamente.

A DQO inicial de 25 g/L (na qual foram consumidos cerca de 18g/L de glicerol) foi a que produziu em maior quantidade 1,3-PPD (Figura 1), e foi condizente com o encontrado na literatura. Tal fato foi considerado bastante satisfatório, já que foi utilizada uma cultura não adaptada ao processo. Utilizando a DQO de 50 g/L (na qual foram consumidos cerca de 39 g/L do substrato) a produção de 1,3-propanodiol foi insatisfatória, pois foi encontrada uma produção bem inferior aos estudos com concentrações próximas (Tabela 4). Tal resultado pode ser atribuído à inibição bacteriana pela elevada concentração de substrato.

Ademais, a produtividade de ambos os reatores foi inferior à dos trabalhos citados, isso especialmente por tratar-se de um inóculo não previamente adaptado ao bioprocessos. Entretanto, as produtividades foram maiores nos três primeiros dias, exceto na DQO de 25 g/L (que foi maior até o sexto dia), demonstrando que as condições iniciais de operação eram satisfatórias para produção de 1,3-propanodiol.

A Tabela 3 mostra as concentrações (g/L) dos biometabólitos obtidas ao final do experimento. Observa-se que o ácido acético teve aumento nas duas maiores DQO testadas (25 e 50 g/L), enquanto que os ácidos butírico, láctico e succínico apresentaram concentrações mais baixas e lineares. O ácido propiônico apresentou valores mais elevados e constantes, tendo redução apenas na DQO de 50 g/L.

Os valores mais elevados de ácido propiônico são condizentes com a rota metabólica de produção desse composto a partir do glicerol, na qual há produção inicial de succinato pela β -oxidação, com geração de uma molécula de ATP e, posteriormente, liberação de gás carbônico para subsequente formação do ácido propiônico. A formação de ácido butírico é menos expressiva, devido ao maior envolvimento energético no catabolismo da acetil-CoA, com a liberação de duas moléculas de NAD e geração de um ATP. Além disso, o favorecimento termodinâmico remete a valores mais negativos de energia livre de Gibbs (-72,0 e - 47,55 KJ/mol) – respectivamente, para os ácidos propiônico e butírico (SANTOS *et al.*, 2010). Isso indica que o equilíbrio da reação está direcionado para a produção dos ânions correspondentes, devido à energia de ligação demonstrar força maior que a de dissociação, implicando em maior entalpia reacional e menor entropia, o que aumenta a constante de equilíbrio e a constante cinética.

Boer *et al.* (2016), testaram a produção dos ácidos carboxílicos com culturas puras *K. mobilis* e *E. coli*, ambas conhecidas por atuarem em meio acidogênico. Ao decorrer do processo, observaram valores altos de ácido propiônico, com o máximo sendo 8 g/L em 25 horas de operação. Os autores verificaram acúmulo maior de ácido butírico somente ao final do experimento: 13 g/L em 67 horas. Esses resultados corroboram com o presente trabalho, por ser observado o beneficiamento da rota do ácido propiônico. Após várias etapas de tratamento do percolado utilizado, Kannengiesser *et al.* (2015), verificaram que no tratamento anaeróbio o maior percentual encontrado dentre os ácidos monitorados foi o de ácido acético (42%), seguido do ácido butírico (23%) e hexanóico (13%), com a adição de etanol como doador de elétrons. Isso pode ser inferido à distinção do substrato utilizado, ao meio microbiano e nutritivo; além de fatores externos como temperatura e pressão.

Um experimento interessante foi conduzido por Leng *et al.* (2017), em que foram realizadas análises termodinâmicas para determinar qual faixa de pH era mais favorável à produção de 1,3-PPD e caproato, a partir de glicerol. Eles encontraram que uma faixa de pH mais alta (7-8) propicia à atuação do glicerol ou etanol como doador de elétrons, enquanto que um pH em torno de 5,5 e pressão 1 atm conferem a formação de caproato e hidrogênio. Ao comparar com este estudo, pode ser verificado que o pH inicial foi fundamental para produção dos ácidos de cadeia curta e, mesmo havendo acidificação do sistema, houve beneficiamento dos ácidos láctico, succínico e 1,3-propanodiol.

Pesquisas mais recentes remetem ao processo fermentativo de formação dos ácidos orgânicos como um tratamento primário à posterior produção de biopolímeros capazes de substituir os plásticos de origem petroquímica. Essas macromoléculas têm características favoráveis à utilização como plásticos, com boa resistência a impactos, sendo conhecidos por polihidroxialcanoatos (PHA). Assim, Figols *et al.* (2018) testaram a conversão dos ácidos orgânicos e 1,3-PPD por fermentação de glicerol residual com uso de culturas mistas. Esses estudiosos verificaram que o rendimento do polímero foi satisfatório (0,19 gDQO/PHA), bem como a produção de 1,3-PPD (0,42 gDQO/1,3-PPD), indicando um uso promissor dos ácidos estudados.

Tabela 4: Comparação da produção de 1,3-propanodiol em alguns trabalhos já realizados com a alcançada na presente investigação.

Trabalho	SAINT-AMANS <i>et al.</i> (1994)	DECKWER (1995)	PAPANIKOLAOU <i>et al.</i> (2000)	BIEBL (2001)	XIN <i>et al.</i> (2016)	WISCHRAL <i>et al.</i> (2016)	Presente trabalho
Cultura	<i>C. butyricum</i> VP1	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. butyricum</i> F2b	<i>C. pasteurianum</i>	<i>C. diolis</i> DSM 15410	<i>C. beijerinckii</i> DSM 791	mista
Glicerol adicionado (g/L)	25,0	50,9	90,0	50,0	20,9	-	25,0
Glicerol não consumido (gDQO/L)	3,7	61,72	-	-	20,9	33,0	25,0
1,3-PDO produzido (g/L)	35,0	22,3	22,0	20,90	11,64	17,5	10,49
Produtividade (g/L.h)	0,722	1,40	1,20	0,99	1,29	0,72	0,11

CONCLUSÕES

Foi possível a produção de 1,3-propanodiol a partir do glicerol residual utilizando-se lodo anaeróbio não adaptado. Dentre os principais ácidos carboxílicos encontrados, houve maior geração de ácido propiônico, seguido de acético e butírico. Também foi detectada a presença dos ácidos láctico e succínico. A maior ocorrência de ácido propiônico nas concentrações testadas deve-se à rota metabólica de degradação do glicerol, que possui favorecimento energético para produção desse composto.

Os resultados indicam que o 1,3-propanodiol teve maior produção ao utilizar uma DQO de 25 g/L, resultando em cerca de 7,8 g/L de 1,3-propanodiol. Assim, novos trabalhos devem ser conduzidos em fluxo contínuo, de maneira a se otimizar as produções de 1,3-propanodiol, assim como se estudar formas de extraí-lo do líquido.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) ETEs Sustentáveis do CNPq pelo suporte financeiro, assim como ao CNPq pelas bolsas de pesquisa concedidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGLER, M. T. *et al.* Chain elongation with reactor microbiomes: upgrading dilute ethanol to medium-chain carboxylates. *Energy & Environmental Science*, v. 5, n. 8, p. 8189, 2012.
2. APHA., 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22^a. ed. Washington: American Public Health Association.
3. BIEBL, H., *et al.* Fermentation of glycerol by *Clostridium pasteurianum* -- batch and continuous culture studies. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, [s.l.], v. 27, n. 1, p.18-26, 1 jul. 2001. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.jim.7000155>.
4. CHERNICHARO, C. A. L., 2007. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Reatores Anaeróbios. 2^a ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. 496 p.
5. DE SÁ, L. R. V., *et al.* Simultaneous analysis of carbohydrates and volatile fatty acids by HPLC for monitoring fermentative biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(23), 15177-15186, 2011.

6. DECKWER, W. *et al.* Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol. *Fems Microbiology Reviews*, [s.l.], v. 16, n. 2-3, p.143-149, fev. 1995. Wiley-Blackwell. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-6445\(94\)00050-9](http://dx.doi.org/10.1016/0168-6445(94)00050-9).
7. FOREST, A.K.; SIERRA, R.; HOLTZAPPLE, M.T. *Effect of biodiesel glycerol type and fermentor configuration on mixed-acid fermentations. Bioresource Technology*, 101 (2010), 9185-9189, 2017
8. HE, Q. (SOPHIA); MCNUTT, J.; YANG, J. *Utilization of the residual glycerol from biodiesel production for renewable energy generation* *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017.
9. PAPANIKOLAOU, S. *High production of 1,3-propanediol from industrial glycerol by a newly isolated Clostridium butyricum strain. Journal of Biotechnology*, [s.l.], v. 77, n. 2-3, p.191-208, 17 fev. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656\(99\)00217-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656(99)00217-5).
10. PAULO, G.; MACK, M.; CONTIERO, J. *Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. Biotechnology Advances*, v. 27, n. 1, p. 30–39, 2009.
11. KANNENGIESSER, J. *et al.* Extraction of medium chain fatty acids from organic municipal waste and subsequent production of bio-based fuels. *Waste Management*, 2015.
12. LO, Y. C. *et al.* Dark fermentative hydrogen production with crude glycerol from biodiesel industry using indigenous hydrogen-producing bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, n. 35, p. 15815–15822, 2013.
13. LEE, C. S. *et al.* A review: Conversion of bioglycerol into 1,3-propanediol via biological and chemical method. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Elsevier, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.033>
14. MACIS, L.; DANIEL, R.; GOTTSCHALK, G.; FEMS. *Microbiol. Lett.*, 164, 21, 1998.
15. MU, Y. *et al.* Microbial production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae* using crude glycerol from biodiesel preparations. *Biotechnology Letters*, v. 28, n. 21, p. 1755–1759, 2006.
16. PEREZ, J. M. *et al.* Biocatalytic reduction of short-chain carboxylic acids into their corresponding alcohols with syngas fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 110, n. 4, p. 1066–1077, 2013.
17. SANTOS, A. R. L. *et al.* Caracterização e tratabilidade biológica dos efluentes líquidos gerados em cabines de pintura de uma indústria moveleira. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 15, n. 4, p. 357–366, 2010.
18. SEIFERT, K. *et al.* Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 34, n. 9, p. 3671–3678, 2009.
19. SILVA, G. P. DA *et al.* 1,3-Propanediol: Produção, aplicações e potencial biotecnológico. *Química Nova*, v. 37, n. 3, p. 527–534, 2014.
20. PAPANIKOLAOU, S. *High production of 1,3-propanediol from industrial glycerol by a newly isolated Clostridium butyricum strain. Journal of Biotechnology*, [s.l.], v. 77, n. 2-3, p.191-208, 17 fev. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656\(99\)00217-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1656(99)00217-5).
21. SAINT-AMANS, S. *et al.* High production of 1,3-propanediol from glycerol by *Clostridium butyricum* VPI 3266 in a simply controlled fed-batch system. *Biotechnology Letters*, [s.l.], v. 16, n. 8, p.831-836, ago. 1994. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00133962>
22. VIANA, M. B., *et al.* Biodegradability and methane production potential of glycerol generated by biodiesel industry. *Water Science and Technology*, v. 66, n. 10, p. 2217–22, 2012.
23. VLASSIS, T. *et al.* Anaerobic treatment of glycerol for methane and hydrogen production. *Global NEST Journal*, v. 14, n. 2, p. 149–156, 2012.
24. WISCHRAL, D. *et al.* Production of 1,3-propanediol by *Clostridium beijerinckii* DSM 791 from crude glycerol and corn steep liquor: Process optimization and metabolic engineering. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 212, p.100-110, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.020>.
25. XIN, B. *et al.* Co-utilization of glycerol and lignocellulosic hydrolysates enhances anaerobic 1,3-propanediol production by *Clostridium diolis*. *Scientific Reports*, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-10, 11 jan. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/srep19044>.
26. YANG, F.; HANNA, M. A.; SUN, R. *Value-added uses for crude glycerol - a byproduct of biodiesel production. Biotechnology for biofuels*, v. 5, n. 1, p. 13, jan. 2012.
27. ZHAO, Y. N.; CHEN, G.; YAO, S. J. *Microbial production of 1,3-propanediol from glycerol by encapsulated Klebsiella pneumoniae. Biochemical Engineering Journal*, v. 32, n. 2, p. 93–99, 2006.